Aus dem Institut für Arbeits- und Sozialmedizin der Universität Tübingen
Komm. Direktor: Professor Dr. med. F.W. Schmahl

Ein Abriß der medizinisch-arbeitshygienisch bedeutsamen Ergebnisse der Erforschung von Berylliumwirkungen

und

Untersuchung der Stimulierbarkeit von Lymphocyten eines Probandenkollektivs mit beruflichem Berylliumkontakt mittels des Lymphocyten-Transformationstestes

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der

MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von

BERND ADOLF BAUER
aus Pliezhausen

1982

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536519_0001

Aus dem Institut für Arbeits- und Sozialmedizin der Universität Tübingen
Komm. Direktor: Professor Dr. med. F.W. Schmahl

Ein Abriß der medizinisch-arbeitshygienisch bedeutsamen Ergebnisse der Erforschung von Berylliumwirkungen

und

Untersuchung der Stimulierbarkeit von Lymphocyten eines Probandenkollektivs mit beruflichem Berylliumkontakt mittels des Lymphocyten-Transformationstestes

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der

MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von

BERND ADOLF BAUER
aus Pliezhausen
1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Professor Dr. med. H. Haselmann
1. Berichterstatter:	Professor Dr. med. H. Weichardt
2. Berichterstatter:	Professor Dr. med. H.J. Mallach

Diese Arbeit entstand am Institut für Arbeits- und Sozialmedizin der Universität Tübingen in Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für Metallforschung in Stuttgart

Ich bedanke mich bei Herrn Professor Dr.med. Heinz Weichardt, emeritierter ordentlicher Professor und ehemaliger Direktor des Instituts für Arbeits- und Sozialmedizin der Universität Tübingen, der mir das Thema dieser Arbeit überlassen hat.

Zu großem Dank verpflichtet bin ich Herrn Professor Dr. med. Hans Zorn, Stuttgart, für die zuteilgewordene Unterstützung bei der Durchführung des experimentellen Teils der Arbeit.

Bedanken möchte ich mich fernerhin bei Herrn Holger Diem für seine wertvolle Hilfe bei der praktischen Durchführung des Lymphocyten-Transformationstestes, sowie bei allen Probanden, die sich für den Test zur Verfügung gestellt haben.

Die statistische Analyse wurde erstellt vom Institut für Medizinische Biometrie der Universität Tübingen.
Für die freundliche Beratung bedanke ich mich bei Herrn Professor Dr. K. Dietz und Herrn Dr. rer. nat. G. Deichsel.

Für die Übernahme des Zweitreferates bedanke ich mich bei Herrn Professor Dr. Mallach.

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Theoretischer Teil	
1.	Chemische und technologische Aspekte des Werkstoffes Beryllium	3
1.1.	Zuordnung im Periodensystem	3
1.2.	Eigenschaften	3
1.3.	Vorkommen in der Natur und Erscheinungsformen	3
1.4.	Chemische Darstellung des Berylliums	4
1.5.	Berylliumverbindungen und deren Darstellung	4
2.	Bedeutung des Berylliums und seiner Verbindungen Einsatzmöglichkeiten in Industrie und Technik	7
3.	Medizinisch-arbeitshygienische Aspekte beim Umgang mit Beryllium und seinen Verbindungen	10
3.1.	Historische Entwicklung der medizinisch-arbeitshygienischen Problematik	10
3.2.	Möglichkeiten beruflicher Gefährdung durch Beryllium und seine Verbindungen	12
3.3.	Maximale Arbeitsplatzkonzentration (MAK-Wert)	13

		Seite
4.	Die Berylliose	15
4.1.	Epidemiologische Angaben	15
4.2.	Akute Berylliose	16
4.3.	Chronische Berylliose	17
4.4.	Therapie	22
5.	Toxokinetik und Pathophysiologie von Berylliumverbindungen	23
5.1.	Aufnahme, Speicherung, Ausscheidung	23
5.2.	Transport und Proteinbindungsverhältnisse von Beryllium im Blut	29
5.3.	Bindung an zelluläre und subzelluläre Strukturen	31
6.	Cancerogenese durch Beryllium und seine Verbindungen	32
6.1.	Osteosarkome	32
6.2.	Lungencarcinome	33
6.3.	Cancerogenität durch Berylliumverbindungen beim Menschen	34
7.	Die chronische Berylliose als Erkrankung auf immunologischer Basis	38

		Seite
III.	Experimenteller Teil	41
1.	Vorbemerkungen zur Zielsetzung des experimentellen Teils und zur Voraussetzung der gewählten Versuchsmethodik	41
2.	Die Methodik des Lymphocytentransformationstestes (LTT) und seine praktische Anwendung	42
3.	Versuchsbeschreibung und Versuchsdurchführung	46
3.1.	Beschreibung der untersuchten Personengruppe und deren berufliche Tätigkeitsmerkmale	46
3.2.	Unterteilung in Gefährdungsstufen	47
3.3.	Benötigte Materialien für den LTT	49
3.4.	Voraussetzungen bei der Arbeit mit Zellkulturen	50
3.5.	Vorversuch zur Festlegung einer geeigneten PHA-Konzentration	50
3.6.	Vorversuch zur Festlegung einer geeigneten Vollblutmenge als Zugabe zu der Lymphocytenkultur	53
3.7.	Durchführung des Lymphocytentransformationstestes	58
3.8.	Zellpräparation und lichtmikroskopische Auswertung	61

		Seite
3.9.	Ergebnisse des Lymphocytentransformations-testes, in Diagrammform dargestellt	63
3.10.	Statistische Auswertung	98
IV.	Diskussion der Ergebnisse	100
V.	Zusammenfassung	104
VI.	Literaturverzeichnis	105

I. EINLEITUNG

Selten hat ein wissenschaftliches Problem die mit seiner Klärung befaßten Disziplinen vor soviel Unklarheiten während seiner Bearbeitung gestellt, wie dies bei der medizinischen Berylliumerforschung der Fall war.

Bis zu den Dreißiger-Jahren unseres Jahrhunderts führte das Element Beryllium mit seinen Verbindungen eher ein Mauerblümchen-Dasein in den Versuchslaboratorien, erfuhr jedoch durch Entdeckung und Erforschung einiger wertvoller und technologisch nutzbarer Eigenschaften eine zunehmende Bedeutung und einen Aufschwung, der bis in unsere Tage anhält und die medizinisch-arbeitshygienische Problematik für die Gesundheit berylliumexponierter Personen erhalten und gemehrt hat.

Speziell der Arbeitsmediziner steht vor der bedeutungsvollen Aufgabe, der Diskrepanz zwischen industriell-technologischer Erfordernis und gesicherter medizinisch-arbeitshygienischer Erkenntnis Rechnung zu tragen und für den Personenkreis der beruflich Berylliumexponierten wirksame Schutzmaßnahmen zu entwickeln.
Die Anerkennung der Berylliose als Berufskrankheit in der Berufskrankheitenverordnung unterstreicht die sozialmedizinische Bedeutung dieser Forderung.
Hierzu zählen beispielsweise die in regelmäßigen Abständen durchzuführenden epidemiologischen und klinischen Untersuchungen von Personen mit erhöhter Gefährdung durch Beryllium und seine Verbindungen.

Insbesondere seitdem die Ätiologie der chronischen Berylliose auf immunologischer Basis betrachtet wird, bieten sich z.B. der Lymphocytentransformationstest oder der Makrophageninhibitionstest als immunologische In-vitro-Methoden an, mit denen über den Immunstatus eines exponierten Probanden eine Aussage zu seiner individuellen Gefährdung gemacht werden soll, bevor die Erkrankung in ihrer klinischen Form erscheint.

Hieraus könnten sich für den Arbeitsmediziner neue Formen der Gesundheitsüberwachung und Krankheitsprophylaxe eröffnen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Zusammenfassung der medizinisch-arbeitshygienisch wichtigsten Fakten aus der bisherigen Erforschung von Berylliumwirkungen und -auswirkungen für Mensch und Tier, sowie die Untersuchung der Lymphocytenstimulierbarkeit eines Probandenkollektivs mit beruflichem Berylliumkontakt unter Anwendung des Lymphocyten-Transformationstestes.

II. THEORETISCHER TEIL

1. Chemische und technologische Aspekte des Werkstoffes Beryllium

1.1. Zuordnung im Periodensystem der Elemente

Beryllium entstammt der II. Hauptgruppe des Periodensystems. Es besitzt die Ordnungszahl 4 und das Atomgewicht 9.
Gemeinsam mit Magnesium, Calcium, Strontium, Barium und Radium wird es den Erdalkalimetallen zugezählt, nimmt jedoch bezüglich chemisch-physikalischer Eigenschaften eine Sonderstellung innerhalb der Gruppe ein.

1.2. Eigenschaften

Beryllium besitzt die Elektronenkonfiguration $2s^2$, siedet bei 2967°C bei einem Schmelzpunkt von 1280°C. Die Dichte beträgt 1,84 g/cm^3 bei 20°C, wodurch es den Leichtmetallen zugeordnet werden kann. Beryllium steht innerhalb der äußerst reaktionsfreudigen Metalle der II. Hauptgruppe an letzter Stelle und kann als das edelste der Erdalkalimetalle bezeichnet werden /13/.
Unter Einwirkung von atmosphärischer Luft überzieht sich Beryllium mit einer dünnen, durchsichtigen Oxidschicht und erscheint deshalb völlig blank.

1.3. Vorkommen in der Natur und Erscheinungsformen

Beryllium erscheint in der Natur nicht in seiner elementaren Form, sondern aufgrund der Reaktionsfreudigkeit in verschiedenen Verbindungsformen, meist als Bestandteil von Mineralien.
Die wichtigste natürliche Erscheinungsform ist der Beryll, ein Mineral mit der chemischen Summenformel $Be_3Al_2(Si_6O_{18})$.
Beryll ist eine undurchsichtige Verbindung mit Hauptvorkommen in Südafrika, Brasilien und dem Ural /51/.

Von der Bezeichnung "Beryll" soll sich das deutsche Wort "Brille" herleiten /80/.
Mit einem Gehalt von ca. 0,3 % Chromoxid erhält Beryll einen grünlichen Schimmer und ist unter der Bezeichnung "Smaragd" ein begehrter Edelstein. Beryll mit hellbläulich-grünem Schimmer wird als "Aquamarin" bezeichnet,
Chrysoberyll mit der chemischen Summenformel $Al_2(BeO_4)$ als "Alexandrit" /51/.

1.4. Chemische Darstellung des Berylliums

Elementares Beryllium wird erzeugt durch Schmelzflußelektrolyse von Berylliumchlorid oder durch Reduktion der Fluoride /13/.
Erstmals dargestellt 1928 von WÖHLER /126/ erscheint elementares Beryllium silbergrau, ist in gegossenem Zustand jedoch hart und spröde. Durch weitere Materialbearbeitungsstufen (z.B. Sintern) können wesentlich verbesserte Eigenschaften erzielt werden, auf welche das immense Interesse von Technik und Industrie an diesem Werkstoff zurückzuführen ist. So erweist sich metallisches Beryllium als Folge seines Oxidationsmantels als äußerst resistent gegen Säuren, vergleichbar dem Leichtmetall Aluminium /17/.

1.5. Berylliumverbindungen und deren Darstellung

Berylliumoxid, erstmals 1798 von VAUQUELIN /112/ dargestellt, wird gewonnen durch Verbrennung von Beryllium oder seinen Verbindungen unter Überleitung von Sauerstoff. BeO besitzt mit 2570°C einen außerordentlich hohen Schmelzpunkt.

Berylliumfluorid (BeF_2) entsteht beim Erhitzen von $(NH_4)_2BeF_2$ als glasige, hygroskopische Substanz mit einem Schmelzpunkt von 803°C, wobei sich eine zähflüssige Masse mit geringer Duktilität bildet /17/.

Berylliumchlorid ($BeCl_2$) entsteht nach Überleitung von Tetrachlormethan über BeO bei 800°C, wobei sich eine farblose kristalline Substanz mit einem Schmelzpunkt von 405°C bildet. $BeCl_2$ zeichnet sich durch gute Solubilität aus.

In Abbildung 1 werden die wichtigsten Herstellungsprozesse der Berylliumverbindungen schematisch aufgezeigt.

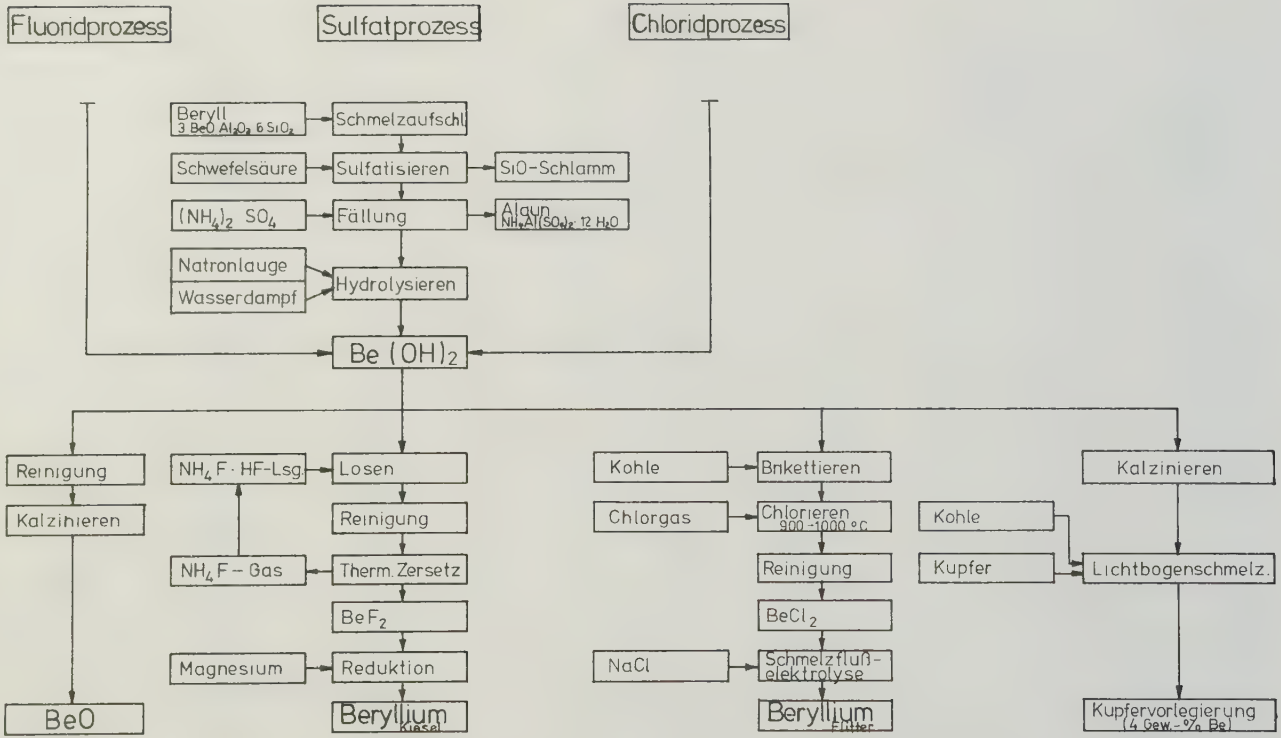


Abb. 1: Flußdiagramm der Berylliumgewinnung /1/

2. Bedeutung des Berylliums und seiner Verbindungen Einsatzmöglichkeiten in Industrie und Technik

Der Bedarf an Beryllium und seinen Verbindungen hat seit dem Zweiten Weltkrieg bis heute eine stetige Zunahme erfahren.

Die Eigenproduktion der USA erreichte 1950 die Menge von 500 Tonnen Beryll und hat sich bis heute kaum verändert.
Bereits 1969 lag jedoch der Jahresbedarf bei 8500 Tonnen und ein Anstieg auf 20.000 Tonnen bis zum Jahr 2000 wird erwartet /18,19/.
Der Hauptanteil des Berylliumbedarfes stammt aus dem Import.
Zahlen über Förderung, Verbrauch etc. sind nur sehr spärlich zu erlangen, da weitreichende militärische Interessen dem entgegenstehen.

Eine vergleichbare Zunahme des Interesses am Werkstoff Beryllium bemerkt man auch im Ostblock.
Seit 1965 ist eine zunehmende Zahl von Veröffentlichungen zu diesem Thema zu verzeichnen /80/.

Diese Entwicklung nimmt ihren Ursprung nicht zuletzt aus den Einsatzmöglichkeiten von Beryllium und seinen Verbindungen in Militärtechnologie und Raumfahrt.
Gerade die neuere Verwendung des Berylliums als Festtreibstoff in Raketenmotoren verschafft dem Thema neue Brisanz, da durch Ausstoß von Verbrennungsprodukten in die Atmosphäre im Tonnenbereich eine erhebliche und gefährliche Umweltbeeinträchtigung entstehen könnte /80/.

In den Zwanzigerjahren erkannte man, daß ein 2-4%iger Zusatz von Beryllium zu Kupfer eine Legierung ergibt, die sich durch so vorteilhafte Eigenschaften auszeichnet wie geringe Verschleißerscheinungen, hohe Zugfestigkeit mit verminderter Anfälligkeit für Korrosion und Materialermüdung, hohe elektrische und thermische Duktilität. So finden u.a. Beryllium-Kupfer-Legierungen Verwendung bei der Herstellung funkenfreier Werkzeuge /80, 128/.

Berylliummetall besitzt eine hohe Festigkeit im Verhältnis zu seiner Dichte, wodurch es mit gutem Erfolg als Werkstoff von Bauteilen in der Luft- und Raumfahrttechnik eingesetzt werden kann.

Weitere Einsatzmöglichkeiten eröffnen sich in Kernforschung und Kerntechnik, z.B. als Neutronenquelle, -bremse, -spiegel, in Form von Moderatoren und Reflektoren /128/.
Durch die niedrige Dichte besitzt Beryllium ein geringes Absorptionsvermögen für elektromagnetische Strahlung und findet Verwendung als Austrittsfenster bei Röntgenapparaten. Mit einer quasi "Katalysatorfunktion" trat Beryllium 1933 in historische Erscheinung, als der englische Physiker Chadwick durch Beschuß einer Berylliumfolie mit Alphateilchen das Neutron entdeckte, sowie 1942, als der Italiener Fermi an einem Radium-Beryllium-Präparat den Uranzerfall nachweisen konnte.

Abbildung 2 zeigt eine Zusammenfassung technisch wichtiger Eigenschaften des Berylliums und deren Verwendungsmöglichkeiten.

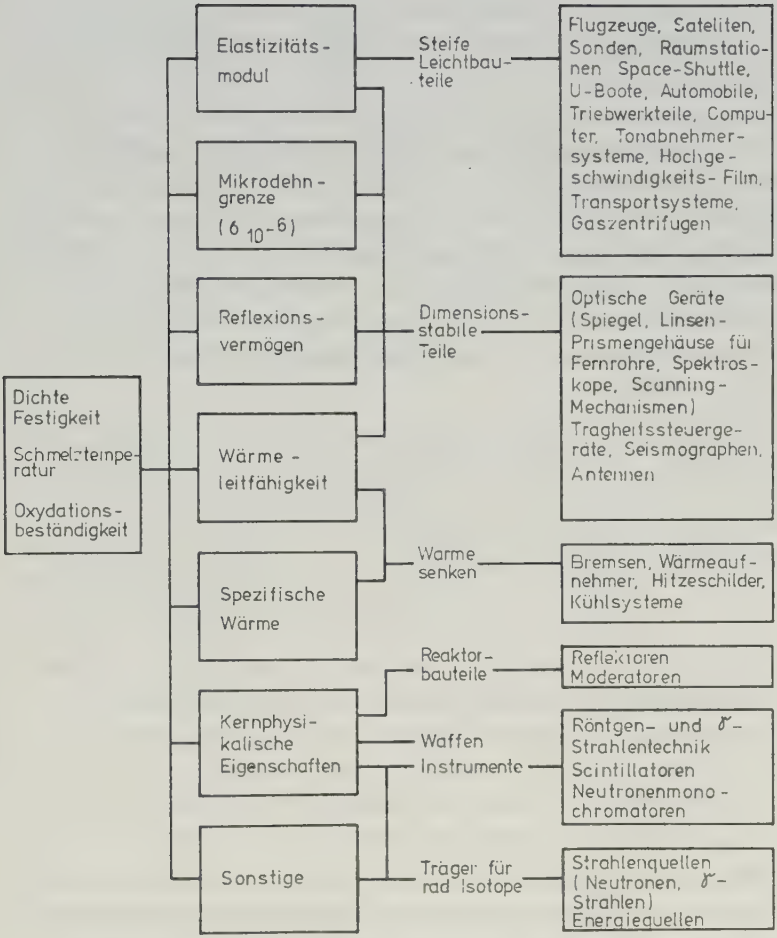


Abb. 2: Technisch wichtige Eigenschaften des Berylliums und ihre Anwendungen / 2 /

3. Medizinisch-arbeitshygienische Aspekte beim Umgang mit Beryllium und seinen Verbindungen

3.1. Historische Entwicklung der medizinisch-arbeitshygienischen Problematik

Nachdem schädigende Wirkungen berylliumhaltiger Stoffe auf lebende Organismen schon längere Zeit bekannt waren, berichteten WEBER und ENGELHARDT /122/ 1933 erstmals über gewerbliche Schädigungen bei Arbeitern der Berylliumextraktion. Sie beschrieben Lungen- und Hautläsionen, die nach Kontakt mit berylliumhaltigem Erzstaub entstanden waren und konnten diese Erscheinungen im Tierversuch an Meerschweinchen reproduzieren. Als Ursache der Erkrankungen wurde jedoch das Fluoridion vermutet, das als assoziiertes Anion in der extrahierten Verbindung erschien.
MARRADI-FABRONI /71/ beschrieb 1935 nach Inhalationsversuchen an Meerschweinchen mit löslichem Berylliumcarbonat die Entstehung einer Pneumonie und schlägt hierfür die Bezeichnung "Berylliosis" vor.
GELMAN /37/ beobachtete 1936 in einer Moskauer Berylliumfabrik Krankheitserscheinungen mit phasenhaftem Verlauf. In einer ersten Phase entstand nach Inhalation berylliumhaltigen Staubes Fieber und weitere Symptome, die dem bereits bekannten Metalldampffieber ähnelten, welches zum Beispiel nach Inhalation von Zinkoxidstaub auftrat. Die zweite Phase wurde als ausgeprägte Alveolobronchiolitis beschrieben. Veränderungen der Haut und des Lungenröntgenbildes wurden 1938 festgestellt /38/.
BERKOVITZ und ISRAEL /10/ berichteten 1940 über Veränderungen der Lunge nach Exposition mit Berylliumfluorid.

Den Berichten wurde jedoch nicht die nach heutigen Maßstäben notwendige, zum damaligen Zeitpunkt noch unterschätzte Bedeutung zugemessen, und die Gefahr, die aus dem zunehmenden Gebrauch des Berylliums für den exponierten Personenkreis erwuchs, bis in die frühen Vierzigerjahre verkannt.

Der Hauptgrund dieser langjährigen Verkennung ist der Meinung vieler maßgeblicher Autoren zuzuschreiben, nicht das Kation Beryllium sei für die pathologischen Reaktionen verantwortlich zu machen, sondern seine assoziierten Anionen. Diese verbreitete Ansicht gipfelte 1943 in einer Feststellung des UNITED STATES PUBLIC HEALTH SERVICE BULLETIN /54/, worin Beryllium selbst als nichttoxisches Agens eingestuft wurde.
Diese verhängnisvolle Aussage führte dazu, daß eine unbekannte Zahl von Arbeitern in der Folgezeit mit einer Vielzahl von Berylliumverbindungen konfrontiert war, ohne daß im nachhinein Angaben über Dauer und Höhe der Exposition möglich waren /100/. Eine beträchtliche Zahl von Erkrankungen an Berylliose dürfte darauf begründet sein und einen schicksalhaften Verlauf angenommen haben, ehe VAN ORDSTRAND /109,110/ und HARDY /46/ die Unrichtigkeit dieser Meinung nachweisen konnten.

HARDY /46/ wies darüberhinaus auf eine chronische Komponente innerhalb des Komplexes der durch Beryllium verursachten Erkrankungen hin. Anlaß gab die Beobachtung einer Latenzzeit zwischen erfolgter Exposition und Ausbruch klinischer Symptome. Diese Latenzzeit zeigte sich in ihrer Dauer als äußerst variabel, mit Schwankungen zwischen einem und zwanzig Jahren. Sie war bei den damaligen pathophysiologischen Kenntnissen einer schlüssigen Interpretation nicht zugängig.

Einen prägnanten Einschnitt erfuhr die Erforschung berylliuminduzierter Erkrankungen durch die Arbeit von STERNER und EISENBUD /102/, die bei der Genese der chronischen Berylliose einen autoimmunologischen Prozeß postulierten. Die Latenzperiode zwischen Exposition mit Berylliumverbindungen und Beginn der Krankheit wurde mit der Bildung spezifischer Antigene erklärt.
Diese richtungsweisende Arbeit war ihrer Zeit einen großen Schritt voraus und bewirkte eine neue Betrachtungsweise der Berylliumproblematik, die zunehmend unter dem Gesichtspunkt einer Immunogenese beleuchtet wurde.

3.2. Möglichkeiten beruflicher Gefährdung durch Beryllium und seine Verbindungen

Wichtige Gefahrenquellen bei der industriellen Verarbeitung von Berylliumverbindungen stellen dar /108/ :

- Dämpfe wasserlöslicher Berylliumsalze bei der chemischen Berylliumextraktion (Zwischenstufen sind Be-Sulfate, Be-Fluoride, Be-Chloride)
- Feinstäube des Berylliums als Vorstufe des gesinterten Materials
- Feinstaub des Berylliumoxids (Beryllia), aus welchem keramische, überwiegend in der Elektroindustrie verwendete Teile geformt und gebrannt werden
- berylliumhaltige Feinstäube, die z.B. beim Schleifen und Polieren von Be-Kupfer und anderen Legierungen frei werden
- Rauchen und Dämpfen beim Einschmelzen oder Schweissen von Berylliumlegierungen

Die stärkste Gefährdung geht von Stäuben aus, deren Partikelgröße unter 10 µm liegen, da gute Lungengängigkeit bis zu den tiefen Atemwegen gegeben ist /61/.
Um die berufliche Gefährdung bei der Bearbeitung des Werkstoffes auf ein Mindestmaß zu reduzieren, ist es erforderlich, Schutzvorrichtungen in den Arbeitsräumen zu installieren, z.B. Schleusen, Bearbeitungsboxen mit Zugängigkeit über Handschuhöffnungen etc. Weiterhin müssen regelmäßige Kontrollen der Berylliumkonzentrationen in der Atmosphäre des Arbeitsplatzes durchgeführt werden.

3.3. Maximale Arbeitsplatzkonzentration (MAK-Wert)

Analog zu anderen gefährlichen Werkstoffen wurde von der DFG-Kommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe ein MAK-Wert für Berylliumverbindungen 1969 festgelegt.

Unter dem MAK-Wert versteht man die "höchstzulässige Konzentration eines Arbeitsstoffes als Gas, Dampf oder Schwebstoff in der Luft am Arbeitsplatz, die nach dem gegenwärtigen Stand der Kenntnis auch bei wiederholter und langfristiger, in der Regel achtstündiger Einwirkung, jedoch bei Einhaltung einer durchschnittlichen Wochenarbeitszeit bis 45 Stunden, im allgemeinen die Gesundheit der Beschäftigten nicht beeinträchtigt und diese nicht unangenehm belästigt " /108/.

Die bisherigen Erfahrungen über Berylliumwirkungen auf biologische Systeme ließen eine potentielle Toxizität vermuten. Dadurch sah sich 1948 das "Atomic Energy Advisory Comittee" der USA veranlaßt, für Fabriken mit berylliumverarbeitenden Funktionen Hygienestandards zu erlassen.
So wurde gefordert /61/ :

1. die Berylliumkonzentration am Arbeitsplatz darf für 8 Stunden den Wert von 2 $\mu g/m^3$ nicht überschreiten
2. keine Person darf selbst für kürzeste Zeit mit mehr als 25 $\mu g/m^3$ exponiert werden
3. die durchschnittliche monatliche Konzentration in der Umgebung von Berylliumbetrieben darf 0,01 $\mu g/m^3$ nicht überschreiten (Air Quality Standard).

Bei Überschreitung des Air Quality Standards um mehr als das Fünffache mußte der betroffene Betrieb schließen und durfte erst nach Behebung der Ursache weiterarbeiten.

Verglichen mit den Werten von Arsen, Cyankali oder Dimethylsulfat, die um das 200- bis 2000fache darüberliegen, wird die große Bedeutung und Strenge dieser Werte erkenntlich.

Für den Bereich der Bundesrepublik wurde 1969 der "Threshold Limit Value" (TLV) mit 2 $\mu g/m^3$ als MAK-Wert übernommen. In der Folgezeit gerieten Berylliumverbindungen allerdings immer mehr in den Verdacht, bei noch niedrigeren Konzentrationen als krankmachende Noxen zu wirken. Infolge einiger Tierversuche wurde ein mögliches Risiko einer Cancerogenese angenommen. Die verantwortliche DFG-Kommission entschied sich dann, das Beryllium und seine Verbindungen doch in die Gruppe III A 2 einzuordnen.

In den USA wird neuerdings 1 $\mu g/m^3$ als Threshold Limit Value gefordert und die UDSSR orientiert sich ebenfalls an diesem Wert und fordert Umsicht bei allen Arbeiten mit Beryllium und seinen Verbindungen /129/.

4. Die Berylliose

4.1. Epidemiologische Angaben

Erkrankungen durch Beryllium und seine Verbindungen sind in Deutschland bereits seit 1943 als Berufskrankheiten anerkannt /121/.
Die Mehrzahl der bekannt gewordenen Erkrankungsfälle wurde aus den USA gemeldet, wo 1952 das "Beryllium Case Registry" eingerichtet wurde /44/. Durch systematische und zentrale Registratur epidemiologischer und klinischer Daten sollten Zusammenhänge und Entwicklungen im Krankengut der Berylliosen verfolgt und ausgewertet werden.
Bis Ende 1977 wurden 887 Fälle von Berylliumkrankheit dokumentiert /100/, von denen bis zu diesem Zeitpunkt 46% bereits verstorben waren. 631 Patienten leiden oder litten an der chronischen Berylliose, 212 an akuter Berylliose. Bei 44 Fällen erfolgte die Dokumentation einer akuten Berylliose mit sukzessiver Chronifizierung.
Allein zwischen 1973 und 1977 wurden 55 Neuerkrankungen gemeldet, 40 Männer und 15 Frauen. Bei ca. der Hälfte dieser Gruppe war Erstkontakt mit berylliumhaltiger Substanz zwischen 1940 und 1949 nachzuweisen, während immerhin 3 Patienten zwischen 1970 und 1977 erstmals mit Berylliumverbindungen exponiert waren /100/.

In Großbritannien wurden bis 1971 61 manifeste Berylliosen gemeldet; 16 weitere Personen wiesen Symptome beginnender Erkrankung auf /58/.

In der Bundesrepublik wurden zwischen 1969 und 1975 19 Erkrankungen an Berylliose angezeigt; 7 Fälle erwiesen sich als entschädigungspflichtig /108/.

Die Berylliumkrankheit kann sich unabhängig von Alter und Geschlecht prinzipiell an jedem Organsystem manifestieren. Am häufigsten betroffen ist jedoch der Respirationstrakt, bedingt durch Inhalation berylliumhaltiger Stäube und Dämpfe, wobei die Toxizität mit dem Grad der Löslichkeit der inhalierten Verbindung zunimmt /108/.

An zweiter Stelle erscheint die Haut als Reaktionsort einer Berylliose mit Dermatitis und Beryllium-Ulzera, zumeist nach Splitterverletzungen mit berylliumhaltigen Teilchen.
Weniger häufig befallen sind Leber, Milz, Niere, Lymphknoten usw.
Vom Krankheitsverlauf können sowohl am Respirationstrakt als auch an der Haut zwei Formen unterschieden werden:

- akute Berylliose
- chronische Berylliose

Unter den akuten Formen versteht man Krankheitsverläufe mit einer Dauer bis zu einem Jahr, während chronische Formen länger als ein Jahr verlaufen und sich überwiegend in der Lunge zutragen /61,107/.

4.2. Akute Berylliose

Die akute Berylliose entsteht nach Inhalation größerer Mengen berylliumhaltiger Substanz als akute Entzündung der oberen, mittleren und tiefen Atemwege, gelegentlich auch nur im Bereich der Bronchialverästelungen /128/. Für den Grad der klinischen Symptomatik kommt sowohl der Solubilität der toxisch inkorporierten Verbindung als auch der Partikelgröße Bedeutung zu. Gut lösliche Verbindungen mit Partikelgrößen unter 10 µm bewirken heftige Verläufe. Wenige Stunden bis 3 Tage nach Exposition entwickeln sich ausgeprägte toxische Reaktionen auf den Atemschleimhäuten, welche mit schwerer Dyspnoe, Husten, wenig Sputum und Rasselgeräuschen über den Lungenpartien einhergehen. Cyanose und Tachycardie können hinzutreten, zumeist besteht Afebrilität. Die Laborparameter sind unspezifisch verändert. Bei Entwicklung eines Lungenödems, das unspezifisch und vergleichbar ist mit Lungenödemen nach Inhalation wasserlöslicher Reizgase, kann die Erkrankung zum Tode führen /128,108/.
Pathophysiologisch liegt eine chemisch induzierte Bronchopneumonie auf toxischer Basis vor, wie von VAN ORDSTRAND /110/ erstmals 1943 in Cleveland/Ohio beobachtet und gelegentlich als Berylliose "Typ Ohio" bezeichnet.

Röntgenologisch können diffuse, trübe Verschattungen im Bereich der Lungenmittelfelder mit vermehrter Lungengefäßzeichnung auftreten /108/.
Leichtere Formen der inhalativen akuten Intoxikation imponieren als Nasopharyngitiden und Tracheobronchitiden mit wenig Husten und Dyspnoe und können von banalen Infekten der oberen Atemwege sehr schlecht differenziert werden /108/.
Die Erkrankung wird meist nach massiver Exposition bei plötzlichen Undichtigkeiten im Schutzsystem gesehen. Außerberuflich entstandene akute Berylliosen wurden nicht beschrieben /80/.
Die akute Symptomatik gleicht dem bei anderen Metallstäuben entstehenden "Metalldampffieber", wie bereits von GELMAN /37/ beschrieben. VALENTIN /108/ betrachtet diese akute, fieberhaft-katharrhalische Symptomatik als die Reaktion nach Inhalation von Stäuben von Berylliumlegierungen mit hohem Messinganteil.
Die klinisch-morphologischen Veränderungen bei der akuten Berylliose können sich nach 3 bis 6 Monaten rückbilden (80%),in einen chronischen Verlauf einmünden (11%) oder zum Tode führen (7%) /35,42,77, 108,128/.

4.3. Chronische Berylliose

Erste Berichte von einer chronischen Verlaufsform der Berylliose mit der synonymen Bezeichnung "Berylliosis, Typ Massachusetts" kamen 1946 aus der Leuchtröhrenindustrie der Gegend im Boston /46/ und standen im Zusammenhang mit der Verwendung von Beryllium-Phosphor als fluoreszierenden Bestandteil von Leuchtröhren.
Diese Erkrankung unterschied sich deutlich von der akuten Form der toxischen Pneumonie, zum einen durch eine Latenzzeit von Monaten bis Jahren zwischen Exposition und Ausbruch der Krankheit, zum anderen durch die geringen Konzentrationen, durch die sie bereits auszulösen war. Durch anhaltende Exposition mit Konzentrationen unter 0,1 $\mu g/m^3$ Beryllium in der Umgebung von Berylliumfabriken soll Berylliose entstanden sein /105/.

Die Löslichkeit der aufgenommenen Verbindung erwies sich als unbedeutend für den Schweregrad der Erkrankung /80/.
Bei Berylliumoxid konnte eine Abhängigkeit der pathogenen Wirkungen von der Herstellungstemperatur beobachtet werden: BeO mit Herstellungstemperaturen über 1500°C zeigte für den betroffenen Organismus geringere Pathogenität als bei Herstellungstemperaturen um 500°C.
Diese Beobachtung erklärte man sich mit Differenzen in den Kristallstrukturen /20,80,99/.
Die chronische Berylliose ist hauptsächlich eine Erkrankung des Respirationstraktes und der Haut, wo pathologische Reaktionen am deutlichsten ablaufen /58/. Wichtiger Prädispositionsfaktor scheint eine individuelle Hypersensibilität zu sein /58/. In Stressperioden, z.B. nach Operationen, nach Infekten des bronchopulmonalen Systems und nach Schwangerschaften wurde häufig der Manifestationsbeginn einer chronischen Berylliose beobachtet /16/.
CLARY /16/ macht Berylliumverschiebungen im Gewebe mit Lysosomeninstabilität und -ruptur verantwortlich. Er führt dies auf verminderte Funktionsfähigkeit des corticoidbildenden Hormonsystems zurück und findet an adrenalektomierten Ratten nach Berylliuminjektion eine Mortalitätsrate von 50%, die nach Gabe von Corticoiden im physiologisch sezernierten Mengenbereich verhindert werden konnte.
Frauen haben eine größere Bereitschaft zur Ausbildung einer chronischen Berylliose gezeigt, was mit verminderter Kapazität des lymphatischen Abtransportes aus der Lunge zu erklären versucht wurde /24,83/.
Die klinische Symptomatik äußert sich in Dyspnoe, Husten und Anorexie. Mit 73% ist Gewichtsverlust ein häufiges Symptom /61/. Schwäche und starke Ermüdbarkeit werden gesehen /101/.
Die Laborparameter in Blut und Serum zeigen kein spezifisches Muster. Gefunden werden Hyperglobulinämie, Hyperurikämie, Hypercalcämie mit Hypercalciurie /101/. Letztere Veränderungen erklären das gehäufte Auftreten von Nierenkonkrementen.

Spontanpneumothorax und Hepatosplenomegalie können sich bereits im Frühstadium einstellen /108/.
Die Ventilationsteste der Lungen zeigen restriktive Funktionsstörungen an, zu denen sich im weiteren Verlauf eine Obstruktion mit cardiorespiratorischen Störungen bis zum Cor pulmonale hinzugesellen kann. Das Cor pulmonale stellt neben der bronchopulmonalen Entzündung die häufigste Todesursache bei der chronischen Berylliose dar /108/.

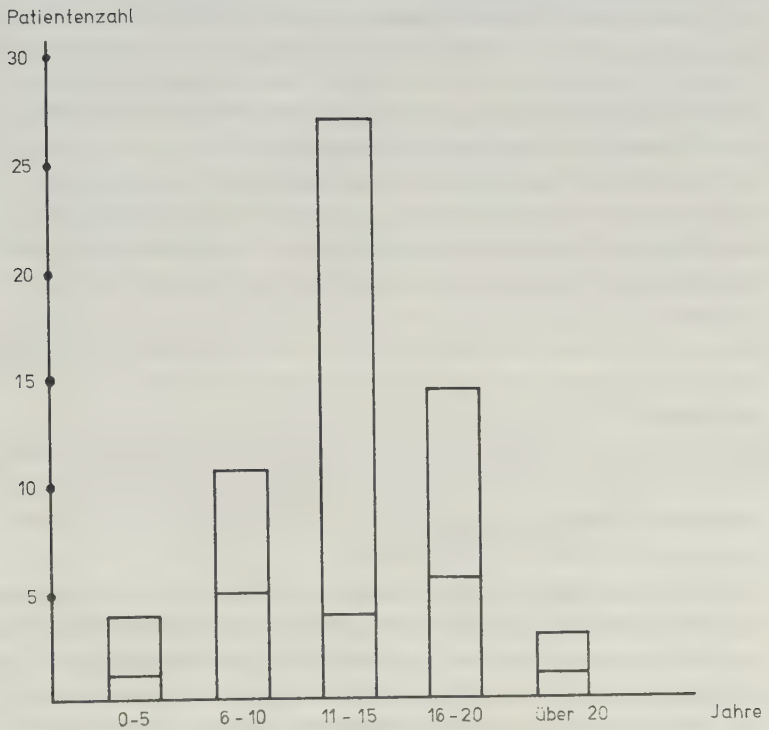


Abb. 3: Dauer der chronischen Berylliose bei 60 Patienten /104/ (untere Säulensegmente: verstorben)

Röntgenologisch lassen sich bei der chronischen Berylliose drei Stadien klassifizieren, deren Zeichen bereits vor den klinischen Zeichen bestehen können /61/:

I. Stadium
feine miliare Herde im Mittelfeld ohne Hilusbeteiligung "Sandsturm"

II. Stadium
wabig-netzförmige Strukturen
"netzförmiges Bild auf gekörntem Hintergrund" /5/

III. Stadium
noduläre Formen mit Bildung bis zu 5mm großen Granulomen hauptsächlich im Hilusgebiet, teilweise konfluierend
"Schneegestöber"

Histomorphologisch stellt sich die chronische Berylliose als eine Lungenfibrose bzw. Lungengranulomatose dar /119/.
Bei 130 Patienten des Beryllium Case Registry wurde Lungengewebe histomorphologisch untersucht /35/. 80% wiesen Zellinfiltrationen auf, während bei den restlichen Schnitten nur wenig oder keine Infiltrationen vorgefunden wurden; dagegen fand man hier sehr viele Granulome.
SPRINCE /101/ findet bei 45% der chronischen Berylliosen Hilusdrüsenbeteiligung, davon 2% bilateral, während JONES WILLIAMS /58/ kaum eine Mitbeteiligung der Hilusdrüsen auffällt.
Die pathohistologischen Befunde bei Gewebsschnitten von Berylliosekranken bzw. nach tierexperimenteller Erzeugung zeigen vorwiegend aggregiert liegende Lymphocyteninfiltrationen, Plasmazellen, Fibroblasten und Epitheloidzellen /108,58/.
In zwei Drittel der Fälle findet man Calciumeinschlüsse /35/.
Granulome entwickeln sich oft an den weniger fixierten subpleuralen, septalen, perivasculären und peribronchialen Stellen der Lunge.
Zentrale Nekrosen sind selten, werden aber bei hohen Gewebskonzentrationen an Beryllium und bei vorhandener starker Hypersensibilität häufiger gefunden /56,58,59/. Gelegentlich findet man Schaumann-Körper.

DUDLEY /30/ weist darauf hin, daß die Diagnose einer granulomatösen Morphologie häufig vom schwerwiegenderen Ereignis der interstitiellen Infiltration ablenkt.

Es ist leicht einzusehen, daß die differentialdiagnostische Abgrenzung von anderen Granulomatosen der Lunge mit einigen Schwierigkeiten versehen ist, da weder mit lichtmikroskopischen Methoden, noch histochemisch oder elektronenmikroskopisch pathognomonische Befunde erhoben werden können.
Insbesondere die Abgrenzung der chronischen Berylliose von der Sarkoidose erwies sich als sehr diffizil. So wurde auch geäußert, daß zwischen der angeblich zunehmenden Zahl von Sarkoidosen und der chronischen Berylliose ein Zusammenhang bestünde dergestalt, daß durch sich erhöhende Umweltkonzentrationen der Berylliumverbindungen Berylliosen als Sarkoidosen fehldiagnostiziert wurden /80/. Allerdings besteht zur Zeit kein Hinweis für eine höhere Prävalenz der Sarkoidose oder eine ätiologische Kausalität zum Beryllium.
Die Diagnose einer chronischen Berylliose erfordert die Berücksichtigung epidemiologischer und klinischer Daten. In der Anamnese muß eine Exposition mit den Berylliumverbindungen eruiert werden, wobei rückwärtige Zeiträume bis zu 20 Jahren berücksichtigt werden müssen. Von besonderer Wichtigkeit für die Differentialdiagnose zur Sarkoidose sind :

- nachgewiesene Exposition mit Berylliumverbindungen
- Kveim-Test (bei Berylliose stets negativ) /58/
- Nachweis erhöhter Berylliumkonzentrationen in Gewebspunktaten
- erhöhte Blastentransformationen
- Nachweis eines Makrophageninhibitionsfaktors

Die von CURTIS /22,23/ vorgeschlagene Epicutantestung hat durch ihr positives Reaktionsergebnis an der Haut zwar den Verdacht bekräftigt, die chronische Berylliose entstünde als Allergie vom verzögerten Typ, darf in der Diagnostik aber nicht mehr eingesetzt werden. Im Zusammenhang mit der Anwendung des Curtis-Testes kam es zur Exacerbation ruhender Berylliosen und zu falsch-negativen Ergebnissen bei floriden Berylliosen /80,104/.

An der Haut äußert sich die Berylliose als Kontaktdermatitis und mit granulomatösen Ulcerationen, wie nach Verletzungen mit berylliumhaltigen Glassplittern beobachtet /26/.
Die Granulome besaßen eine sehr schlechte Heilungstendenz und unterstützten durch ihre Morphologie die allergische Bildungstheorie der chronischen Berylliose.

4.4. Therapie

In Ermangelung einer kausal begründeten Therapie muß analog zu anderen Pneumokoniosen ein symptomatisches Behandlungskonzept zur Stützung cardiorespiratorischer Funktionen im Vordergrund stehen.

Da das Berylliumion ein starker Komplexbildner ist, wurde zeitweise die therapeutische Gabe von Chelationbildnern wie Aurintricarbonsäure und organischen Phosphatkomplexen angewandt, ohne daß sich der gewünschte Erfolg überzeugend eingestellt hätte /62,65,92,94,123/.
Von der früheren ACTH-Behandlung erfolgte Umstellung auf initial hochdosierte 11-Beta, 17,21-Trihydroxy-1,4-pregnadien-3,20-dion-Gabe (Prednisolon) mit nachfolgender Langzeitbehandlung im Schwellendosisbereich.
Mit dieser Therapie läßt sich derzeit die Progredienz einer chronischen Berylliose am wirkungsvollsten einschränken /25,45,74,108/.
Die weitere Forschung zur Klärung der immunologischen Abläufe bei dieser Erkrankung wird es in näherer Zukunft möglicherweise gestatten, gegenüber der allgemeinen Immunosuppression mit Corticoidmedikation eine fortgeführte, differenziertere Immunosuppressionstherapie anzuwenden.

5. Toxokinetik und Pathophysiologie von Berylliumverbindungen

5.1. Aufnahme, Speicherung, Ausscheidung

Die arbeitsmedizinisch relevanteste Form der Inkorporation berylliumhaltiger Substanzen erfolgt über das Respirationssystem nach Staub- oder Dampfinhalation. Durch eine Vielzahl experimenteller Arbeiten war es möglich, den Resorptionsweg über die Atemtrakt-Schleimhäute nachzuweisen.

Nach oraler Applikation und Passage des Digestionstraktes haben sich lösliche Berylliumverbindungen in Konzentrationen für Versuchstiere als unschädlich erwiesen, die verglichen mit inhalativen Schädigungskonzentrationen als hochtoxisch zu bezeichnen sind. Bei Ratten ergab sich eine Resorptionsquote von 0,2% der oral verabfolgten, ^{7}Be-markierten Verbindung /21/. Dieser Effekt ist der Ausfällung der Verbindung durch Verdauungsfermente zuzuschreiben.

Neuere Untersuchungen von ZORN /128,129/ befassen sich mit der perkutanen und inhalativen Aufnahme von Beryllium, durchgeführt an Wistarratten mit Hilfe des Gammastrahlers $^{7}BeCl_2$.
In einer ersten Versuchsreihe wurden die Resorptionsverhältnisse an der Haut des Rattenschwanzes überprüft, die zur Haut des Menschen einige histologische Parallelen aufweist /130/.
In Einzelversuchen mit Resorptionsintervallen bis zu 74 Stunden ergeben sich unmittelbar nach Expositionsende Verteilungsverhältnisse in den einzelnen Organen wie in Abbildung 4 dargestellt.

Als besondere Auffälligkeit ergab sich eine hohe Konzentration von ^{7}Be-Chlorid in Magen und Darm, was als Zeichen der Mitbeteiligung dieser Organe an der Ausscheidung im Sinne einer Diffusion der Noxe vom Blut in die Darmzellen bzw. Exkretion über Gallenwege gedeutet wird.
ZORN /128/ weist ausdrücklich auf die Bedeutung des weniger beachteten Resorptionsgeschehens durch die Haut hin, wie sie sich in der Untersuchung erwiesen hat.

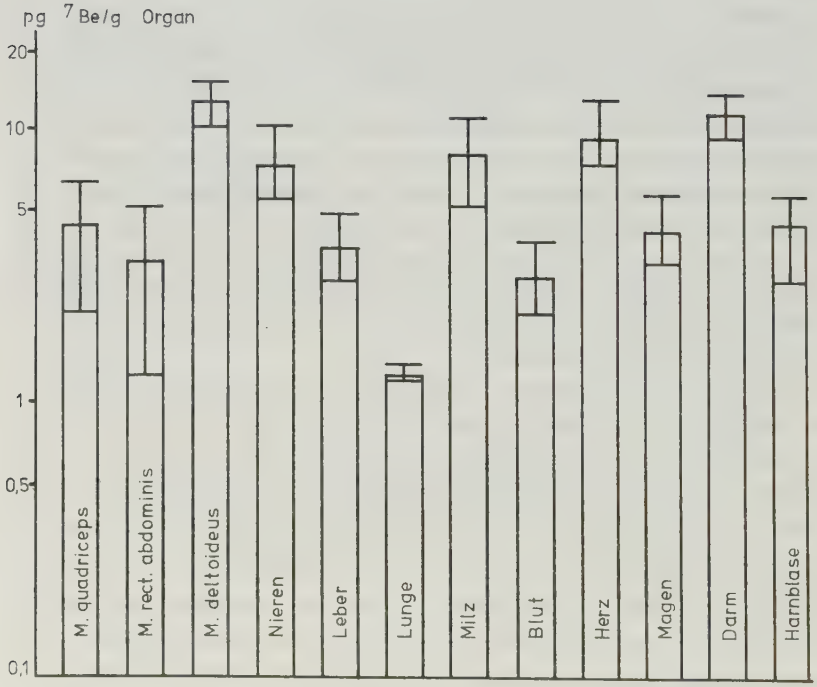


Abb. 4:

Verteilung des über die Haut aufgenommenen markierten (^{7}Be) in verschiedenen Organen direkt nach Beendigung der Beryllium-Exposition /128/

In einer zweiten Mitteilung werden die inhalativen Resorptionsbedingungen sowie Speicher- und Abbauverhältnisse von neutronenmarkiertem ^{7}Be-Chlorid an Wistarratten untersucht /129/.
Die Exposition der Tiere erstreckte sich über drei Stunden in einer Nebelkammer, in welcher ein Gemisch aus 2,9 ml $^{4}BeSO_4$-Lösung (1 mg Be/ml/ und 0,1 ml $^{7}BeCl_2$-Lösung (0,1 µg Be/ml) vernebelt und von den Tieren inhaliert wurde.
408 Stunden nach Expositionsende fanden sich 6,8% der Gesamtkörperaktivität im Skelett und 1,5% in der Lunge wieder. 92% der Gesamtkörperaktivität waren nach diesem Zeitraum über Faeces und Urin ausgeschieden.
Verglichen mit den Restaktivitäten nach 408 Stunden in den anderen untersuchten Organen (Niere, Leber, Milz, Blut, Gehirn, Muskel, Herz) erhält man für das Skelett und die Lunge Restaktivitäten, deren Faktor um ca. 1400 bzw. 300 deutlich höher ausfällt. Diese Feststellungen und die beobachtete Berylliumaufnahme im Skelett mit verzögerter Abgabe vom Knochen lassen eine Speicherfunktion des Knochens vermuten, wie bereits an anderer Stelle angesprochen /88/.
In Einklang zu bringen sind diese Beobachtungen mit jenen von SCHEPERS /88,89/, daß sich Beryllium nach Expositionsende über Jahre hinweg in Körperzellen in nachweisbarer Größenordnung auffinden läßt und wahrscheinlich eine Rückverteilung von Speicherorganen zur Lunge abläuft.

Ursache dieser Speicherfunktion des Skeletts könnte eine konkurrierende höhere Bindungsaffinität des Berylliums an den magnesiumbindenden Stellen des Skelettes sein, aufgrund der magnesiumähnlichen Eigenschaften des Berylliumions. Fernerhin stellt das Skelett den wichtigsten Magnesiumspeicher für den menschlichen Organimus dar /96/.
CIANCIARA /15/ berichtete über absinkende Magnesiumwerte im Serum bei zunehmender Exposition mit Beryllium und erklärte dieses Phänomen als "Austauschreaktion" zwischen Beryllium und Magnesium.
Desweiteren kommt auch der Lunge Bedeutung als Speicherorgan zu. Frühere Untersuchungen zeigten eine besondere Affinität der Lysosomen in Alveolarzellen für Beryllium mit späterer Verschiebung zu den Zellkernen /87,114,115,124/.

In Verbindung mit der bereits angesprochenen Vermutung einer Berylliumrückverteilung vom Skelett in die Lunge und mit Bindung an Proteinmatrices könnte der Mechanismus erklärt werden.
Als äußerst bemerkenswert erscheint in diesem Zusammenhang die Erkenntnis aus Tierversuchen zu sein, in welchen durch Berylliumverbindungen Osteosarkome und Lungenkarzinome als häufigste Tumorformen erzeugt werden konnten. Wenngleich die Cancerogenese durch Beryllium und seine Verbindungen für den Menschen nicht als gesichert gelten darf, worüber an anderer Stelle noch zu berichten sein wird, so muß diese merkwürdige Parallele in den weiteren Überlegungen doch mitberücksichtigt werden.

Die Abbildung 5 zeigt die ^{7}Be-Verteilung in der Ratte nach 3 Stunden $^{7}BeSO_4$-Exposition.

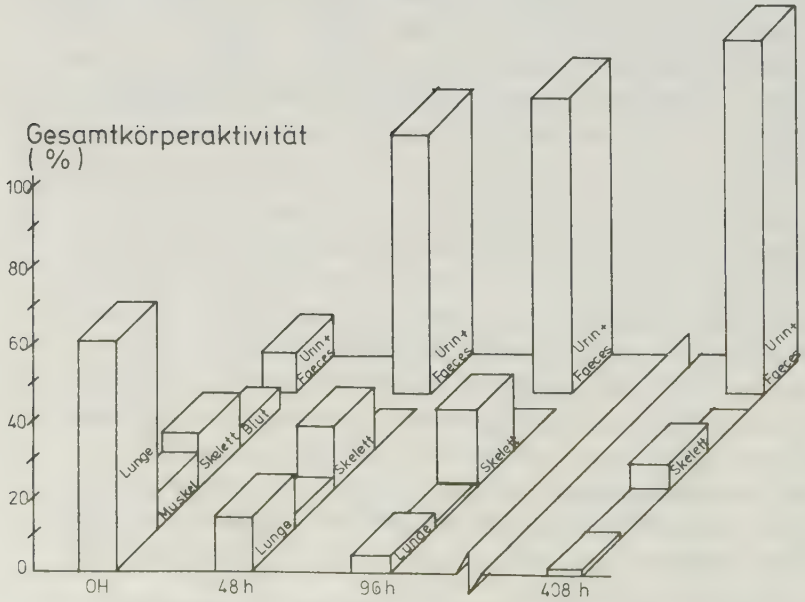


Abb 5 ^{7}Be-Verteilung in der Ratte nach 3 Stunden $^{7}BeSO_4$-Exposition / 129/

Ausscheidung

Wie bereits erwähnt wurde, erfolgt der Hauptanteil der Ausscheidung inhalativ aufgenommener Berylliumverbindungen bei Ratten über Urin und Faeces.

Nach Inhalationsversuchen mit Meerschweinchen konnte die Dynamik der Verteilung im Serum und die Ausscheidung näher gekennzeichnet werden (Abbildung 6).

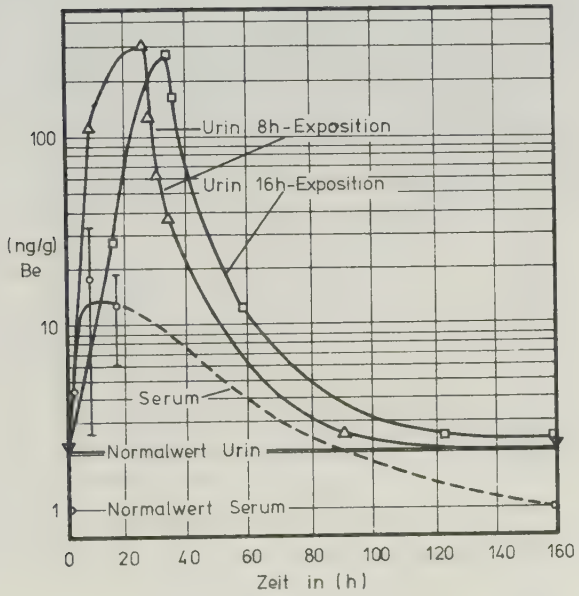


Abb.6: Zeitlicher Verlauf der Beryllium-Konzentration in Blut und Urin von inhalativ exponierten Meerschweinchen, normiert auf eine Außenluftkonzentration von 10 mg Be/m^3/103/

Nach einmaligem ungewolltem Austritt geringer Mengen von Berylliumchlorid aus einer Versuchsapparatur in einem berylliumbearbeitenden Labor ergab sich der in Abbildung 7 dargestellte Zusammenhang zwischen der Atemluft von 8 Personen, die sich täglich 4-6 Stunden im Kontrollbereich aufhalten und den Berylliumausscheidungen im Urin.

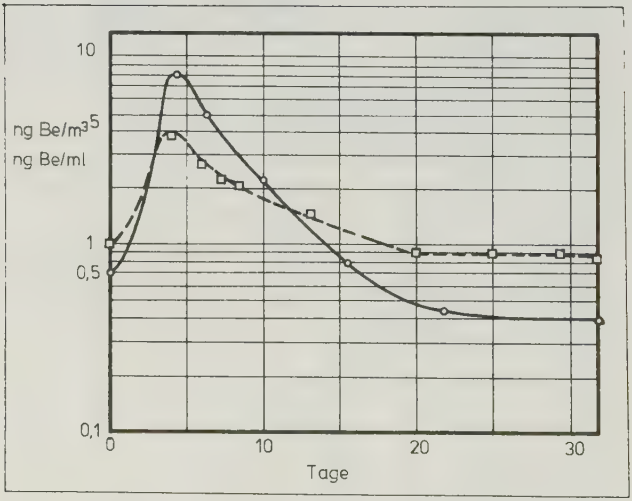


Abb. 7: Relation des Be-Gehaltes in Urin (--) und Atemluft (—) schwach exponierter Personen /103/

5.2. Transport und Proteinbindungsverhältnisse von Beryllium im Blut

In einer sehr ausführlichen Arbeit untersuchte STIEFEL /103/ die Verteilung von inkorporiertem Beryllium im Vollblut und nach selektiver Präparation in den Einzelfraktionen des Serums.
In einem analytischen Verfahrensverbund, bestehend aus Zentrifugation, Ultrafiltration, (Immun-)Elektrophorese und flammenloser Atomabsorptionsspektrometrie konnte die Verteilung von Beryllium in seiner Allgegenwartskonzentration (ca. 1 ng/g) und nach In-vitro-Dotierung mit verschiedenen Berylliumkonzentrationen (10-100 ng/g) im Humanblut, sowie bei Ratten und Meerschweinchen aufgeklärt werden.
Die Vergleichbarkeit der In-vitro- und In-vivo-Versuche wurde an Meerschweinchen überprüft, deren Bindungsverhältnisse für Beryllium im Blut nach Inhalationsversuchen und In-vitro-Dotierung mit der angewandten Analytik verglichen wurden. Dabei konnte die Vergleichbarkeit der Berylliumbindung nach In-vivo-Aufnahme und nach In-vitro-Dotierung aufgezeigt werden.

Der Korpuskulärteil wies im Mittel aller untersuchten Proben (27,3 $\pm$ 7,0) % des erwarteten Berylliums in Bindung auf, im Serum fanden sich (72,7 $\pm$ 7,0) %.

Die grobe Auftrennung des Serums in einen niedermolekularen Anteil (MG kleiner 10.000) und einen hochmolekularen Anteil (MG größer 10.000) ergab 88% Beryllium in der hochmolekularen, proteinanalogen Fraktion. Eine Abhängigkeit der Bindungsrelation von der Anwesenheit eines Komplexbildners mit Erhöhung in der niedermolekularen Fraktion konnte nachgewiesen werden.

Die weitere elektrophoretische Auftrennung erweist die γ-Globuline und das Präalbumin als bevorzugte Bindungspartner für Berylliumionen.

In Tabelle 1 sind die wichtigsten Ergebnisse dieser Untersuchung aufgeführt.

Tabelle 1 /103/

Probe	Korpuskulär-Teil (%)	niedermolekul. Serumbestandteile (%) MG 10.000	Präalbumin %	γ-Globulin %
Humanvollblut ohne Be-Zusatz	33,2	7,3	8,0	51,5
Humanvollblut Be-versetzt	17,4	9,2	69,9	3,5
Meerschweinchenvollblut mit Be-Zusatz	23,2	1,7	73,2	1,9
Meerschweinchenvollblut nach Be-Inhalation	18,3	9,8	70,9	1,0

Beryllium wurde in seiner Allgegenwartskonzentration zu 8% an Präalbumin und rund 60% im γ -Globulin gebunden vorgefunden.
Nach Berylliumzugabe in die Blutproben wurden 70% des erwarteten Berylliums im Präalbumin und 1-3,5% in den γ -Globulinen wiedergefunden.
Setzt man die Dotierung der Blutproben einem Intoxikationsvorgang gleich, so kann vermutet werden, daß das Präalbumin das toxisch aufgenommene Beryllium nach dessen Passage durch die alveolokapilläre Membran bindet und aufgrund einer sehr labilen, pH-abhängigen Bindung /103/ zum Großteil durch einen pH-Gradienten in der Niere wieder ausscheidet. Dieser Mechanismus scheint Bedeutung zu besitzen für die Bindung und Elimination toxisch inkorporierter Berylliummengen in akuten Vergiftungsphasen.
Für die Entstehung der chronischen Berylliose als Erkrankung mit spätallergischem Charakter spricht der Nachweis einer gebundenen Berylliumfraktion in den γ -Globulinen als auch im Korpuskulärteil.

5.3. Bindung an zelluläre und subzelluläre Strukturen

Frühere Untersuchungen /124/ ergaben hohe Bindungsaffinität von Beryllium für Kerne von Leberzellen (Ratte).
PARKER /75/ findet im Vergleich zu Zellkernen eine zweifache Bindungsaffinität an die Nucleolen, nicht jedoch an Histoneiweiße. Bei der Auftrennung des Chromatingerüstes wird eine bevorzugte Bindungsbereitschaft für die Fraktion gefunden, in welcher sich die höchste Konzentration an phosphorylierten Enzymkomplexen eingestellt hat.
In Übereinstimmung mit WITSCHI /124/ konnte die DNS nicht als Bindungspartner für Beryllium nachgewiesen werden, wiewohl eine Hemmung der DNS-Synthese in regenerierenden Leberzellen der Ratte /125/ und die Hemmung der Zellteilung im Stadium der Metaphase, ähnlich dem Cholchicin, beobachtet wurde /33/.
Eine befriedigende Erklärung dieser Mechanismen existiert nicht, insbesondere scheint die Mitosehemmung des Berylliums nicht auf denselben Pathomechanismus wie beim Cholchicin zurückzuführen zu sein, da sich Beryllium nicht wie Cholchicin an das Zellkernprotein Tubulin zu binden scheint /75/.

6. Cancerogenese durch Beryllium und seine Verbindungen

Sehr frühzeitig wurden experimentelle Tierstudien durchgeführt, die die Untersuchung cancerogener Wirkungen durch aufgenommene Berylliumverbindungen zum Ziel hatten, und wohl kein anderes Metall wurde in seinen verschiedensten Erscheinungsformen einer solchen Vielzahl von Langzeitstudien unterzogen, wie dies bei Beryllium der Fall war.

Man erkannte bei den einzelnen Species der eingesetzten Versuchstiere interessante Differenzen in den Reaktionen nach Gabe der Noxen. Während Kaninchen Osteosarkome produzierten, entwickelten Ratten bei verschiedenen Applikationsformen Lungencarcinome. Meerschweinchen hingegen verhielten sich sowohl nach Inhalation als auch nach Injektion der suspekten Verbindungen als resistent für Karzinome /31,117,118/.

6.1. Osteosarkome

GARDNER /36/ beobachtete bereits 1946, daß durch intraossäre Verabreichung von Zn-Be-Silikat bei Kaninchen Osteosarkome zu erzeugen waren. Es handelte sich um die erste Mitteilung überhaupt, wonach sich ein nichtradioaktiver Stoff in der Lage erwies, bei Versuchstieren Osteosarkome zu erzeugen. Mehrere Arbeiten der Folgezeit bestätigten, daß mit hohen Dosen dieser und weiterer Berylliumverbindungen in statistisch nicht gesicherter Zahl Osteosarkome zu erzeugen waren /4,6,7,118/.
Neben der vorwiegend angewandten Form der intravenösen Applikation wurden Osteosarkome auch nach Inhalation und intramedullärer Injektion des cancerogenen Agens gesehen /106/.
Eingehende histologische Untersuchungen sollen die Malignität der neoplastischen Gewebe bestätigen. Die Latenzzeit zwischen Applikation und Manifestation der Neoplasie lag zumeist bei 10 Monaten, wobei allerdings in Einzelfällen Tumoren schon nach 5 Monaten oder auch erst nach 24 Monaten entstehen konnten. Bei mehr als der Hälfte der Tiere entstanden Metastasen, wobei sich BeO verglichen mit Phosphorverbindungen als weniger cancerogen erwies /41/.

6.2. Lungencarcinome

Diese Form der Neoplasie entwickelte sich bevorzugt im Tierversuch mit Ratten, die nach Exposition mit berylliumhaltigen Verbindungen sehr schnell und sehr deutlich mit einem Lungencarcinom reagierten. Sie wurden als bevorzugte Tierspezies in der Berylliumforschung eingesetzt /41/, ohne daß hierfür jeweils eine ausreichende Begründung erbracht wurde.
VORWALD /116/ beobachtete bei 4 von 6 Ratten ein Jahr nach Beendigung einer intermittierenden $BeSO_4$-Inhalation mit einer Dosis von 33 $\mu g/m^3$ Beryllium Adenocarcinome der Lunge, die teilweise in die regionalen Lymphknoten metastasierten. Später wurden die histologischen Diagnosen eines Carcinoms jedoch wieder in Frage gestellt.
SCHEPERS /91/ exponierte Ratten sechs Monate mit $BeSO_4$-Aerosol und findet 6 bis 12 Monate nach Expositionsende die höchste Inzidenz an Lungenneoplasien. Von 131 Tieren entwickelten 51 Tiere vorwiegend Adenocarcinome, bei einer Metastasierungsrate von 10%. Auch diese Arbeiten blieben bei Nachuntersuchungen nicht unwidersprochen.
REEVES /84/ exponiert Ratten mit 35 $\mu g/m^3$ Beryllium inhalativ insgesamt 72 Wochen lang 5 Tage pro Woche und 7 Stunden pro Tag. 13 Monate nach Expositionsende haben alle 43 Tiere der Versuchsreihe eine Neoplasie in der Lunge, wohingegen eine nichtexponierte Kontrollgruppe keine Lungenveränderungen aufwies. Später bezeichneten Nachuntersucher die pathologischen Veränderungen als Granulome.
Berylliumhaltiges Erz erzeugte mit 4% Be nach Inhalation Lungentumore, während die Inhalation von Erz mit 1,4% Be-Gehalt keine Schädigungen nachweisen ließ /120/.

7 bis 30 Tage nach Inhalation von Berylliumfluorid, Berylliumsulfat oder -phosphat wurden bei Rhesusaffen Verdickungen der Alveolarzellwände und Metaplasien in den Alveolarepithelien gefunden /26/.
Bei nur einem Tier entdeckte man 82 Tage nach Expositionsende einen Lungentumor mit 3 mm Durchmesser.

VORWALD /113/ findet bei 8 Rhesusaffen eines Kollektivs von 9 Tieren, die die Exposition mit $BeSO_4$ mindestens 6 Jahre überlebt hatten, daß Lungencarcinome mit Metastasierung in Knochen, Nebenniere, Leber und Mediastinallymphknoten entstanden waren. Auch hier wurde später die Eindeutigkeit der histologischen Befunde wieder in Frage gestellt.
Im Gegensatz zu den geschilderten Beobachtungen an Kaninchen, Ratten und Affen konnte bei Meerschweinchen bzw. beim Schwein keine vergleichbare Neoplasie nach Applikation von Berylliumverbindungen erzeugt werden.
Als typischer Befund zeigten sich granulomatöse Veränderungen, die zahlreiche histologische Parallelen zur Berylliose beim Menschen aufwiesen /118/.

6.3. Cancerogenität durch Berylliumverbindungen beim Menschen

Im Tierversuch haben sich als cancerogen erwiesen /41/ :

- Zn-Be-Silikat
- Zn-Mn-Silikat
- Be-Silikat
- Berylliumoxid (bei 500°C, 1100°C, 1600°C Herstellungstemperatur)
- Berylliumhydroxid
- Berylliumphosphat
- metallisches Beryllium
- Berylliumsulfat
- Berylliumerz
- berylliumhaltige Verbrennungsprodukte aus Raketenantriebsmotoren

Von entscheidender Bedeutung für den Arbeitsmediziner ist jedoch die Klärung der Frage, ob Berylliumverbindungen beim Menschen maligne Tumoren induzieren können.
Trotz einer Wahrscheinlichkeit dieser Kausalität im Tierversuch ist eine Übertragung dieser Erkenntnis auf human-biologische Systeme mit großen Unsicherheiten belastet und nicht kritiklos erlaubt.

Zum einen bestehen zwischen Mensch und Tier verschiedene Relationen in der Lebenserwartung und somit andere Bedingungen in der Entwicklungsperiode und klinischen Manifestation von Tumoren, zum anderen sind die biologischen Reaktionen durch artspezifische Unterschiede z.B. in den Enzymsystemen und im Immunsystem oder den Dosis-Wirkungsbeziehungen nur sehr bedingt vergleichbar.
Da sich experimentelle Untersuchungen am Menschen verbieten, verbleibt als wichtige Untersuchungsmethode die epidemiologische Längsschnittstudie von Kasuistiken. Eine geeignete kasuistische Quelle stellt das "Beryllium Case Registry" (BCR) dar, in welchem Daten zur Klinik, dem Verlauf, Komplikationen, Todesursachen etc. gespeichert sind.

Die registrierten Fälle des BCR wurden mehrfach mit statistischen Arbeitsmethoden überprüft, um möglicherweise Aussagen zur Cancerogenität des Berylliums beim Menschen machen zu können.

HARDY /44/ kommt 1967 nach einem Résumée der bis dahin gemeldeten Berylliosen im BCR zu dem Schluß, daß keine erhöhte Inzidenz für Carcinome zu erkennen sei.
HASAN /47/ deutet 1974 eine erhöhte Inzidenz an Lungencarcinomen bei Personen an, die seit 1965 im BCR aufgeführt waren. Die Studie basierte auf 53 Fällen und schien für weiterreichendere Aussagen zur Carcinogenität statistisch nicht verwertbar zu sein.
MANCUSO /67,68,69,70/ findet nach Erhebungen aus dem BCR eine positive Korrelation zwischen der Häufigkeit an nicht-neoplastischen Lungenerkrankungen und Lungencarcinomen bei Berylliumarbeitern. Eine signifikante Erhöhung der Inzidenz an Lungencarcinomen zu einer Vergleichsgruppe, die in den epidemiologischen Daten (Alter, Geschlecht, Rauchgewohnheiten, etc.) abgestimmt war, ließ sich allerdings nicht ableiten.

Beim Vergleich der Mortalität an Lungencarcinom in zwei Berylliumfabriken /68/ zeigt sich in beiden Fällen eine erhöhte Mortalität gegenüber einer wiederum epidemiologisch vergleichbaren Gruppe weißer Männer der US-Bevölkerung. Der Vergleich eines Berylliumarbeiter-Kollektivs mit jenem aus einer viskoseverarbeitenden Kunstseidenfabrik scheint

für die Berylliumarbeiter signifikant höher Mortalitätsraten für Lungencarcinome /67/ zu ergeben.

INFANTE /55/ verglich die beobachteten Todesursachen mit den erwarteten Todesursachen weißer Männer bei 139 Personen, die zwischen 1952 und 1975 im BCR registriert wurden. Epidemiologische Unterschiede und außerberufliche Einflüsse wurden entfernt.

Seine Ergebnisse sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2 (modifiziert nach /55/):

Beobachtete und erwartete Todesursachen bei weißen Männern, die zu Lebzeiten zwischen dem 1.7.1952 und 31.12.1975 im BCR registriert wurden

Todesursache	ICD-Nr.	beobachtet	erwartet
Malignome insgesamt.	(140-205)	19	12,41
-- Lunge	(162-163)	7	3,30
-- andere		12	9,11
Herzkrankheiten	(400-443)	31	29,88
Nichtneoplastische Krankheiten der Atemwege	(470-527)	52	3,17
-- Grippe und Lungenentzündungen	(480-493)	0	1,55
-- andere	(470-479, 500-527)	52	1,63
Unbekannt		15	----
SUMME		139	65.89

Auffällig ist der deutlich erhöhte Beobachtungswert bei den nicht-neoplastischen Erkrankungen der Atemwege, wobei die in einem durchschnittlichen Krankengut häufigen Infekte der Atemwege nicht mitgewirkt haben.
Betrachtet man die Eingangsdiagnosen im BCR bei allen Personen mit der Todesursache "Lungencarcinom", so kann der Schluß gezogen werden, Personen mit Eingangsdiagnose "akute Pneumonie" oder "Bronchitis" würden ein größeres Erkrankungsrisiko für ein Lungencarcinom tragen als Personen mit Eingangsdiagnose "chronische Berylliose" /55/. INFANTE /55/ schließt aus seinen Vergleichen auf eine höhere Inzidenz an Lungencarcinomen bei Personen mit Berylliumexposition.

Zusammenfassend muß gesagt werden, daß diese Arbeiten mit kasuistischer Grundlage und statistischer Auswertung durchaus in der Lage sind, Trends aufzuzeigen. Der strenge, wissenschaftlich-biologische Beweis der vermuteten Kausalität zwischen Berylliumkontakt und Cancerogenese wird dadurch nicht ersetzt und bedarf weiterer Entwicklung. Aus dieser Unsicherheit heraus muß ein sorgfältiges und verantwortungsbewußtes Handeln bei der Bewertung von Gefährdung und Wirkung für humanbiologische Systeme resultieren. Aus dieser Erkenntnis und aus den Ergebnissen der verschiedenen kasuistischen Berichte erfolgte der Beschluß der "Senatskommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft", für Beryllium und seine Verbindungen keinen MAK-Wert mehr zu definieren.

Somit muß dem Statement von REEVES /80/ weitere Gültigkeit zugemessen werden, und zwar dergestalt, daß es immer noch zu früh ist, endgültige Folgerungen zu ziehen, und daß der Mensch zwar ähnlich dem Meerschweinchen Anfälligkeit für die Berylliose besitzt, jedoch gegen berylliuminduzierte Neoplasien Resistenz aufzuweisen scheint.

Abzuwarten bleiben die Erfahrungen mit den Modellen zur Cancerogenese in menschlichen Zellkulturen, wenngleich auch durch sie nur Mosaiksteine gewonnen werden können und Vorbehalte zur Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die biologische Gesamtheit"Mensch" bestehen bleiben.

7. Die chronische Berylliose als Erkrankung auf immunologischer Basis

Die Entstehung der chronischen Berylliose auf autoimmunologischer Basis wurde bereits 1951 von STERNER und EISENBUD /102/ vermutet. Sie gründeten ihre Hypothese auf der Beobachtung, daß nur ein geringer Prozentsatz der exponierten Arbeiter erkrankte, und daß das Leiden häufig mit einer längeren Latenzzeit erschien. CLARY et al. /16/ erklärte diese Latenzzeit mit Triggermechanismen wie Operationen, Schwangerschaft, Infektionen , wobei sich stressbedingte adrenerge Alterationen ergeben mit Berylliumverschiebungen in den Zellen durch Lysosomeninstabilität und -ruptur, in deren Folge sich die zellpathologischen Reaktionen zutragen.

Weitere experimentelle und empirische Befunde unterstreichen die pathoimmunologische Genese der chronischen Berylliose:

- dosisunabhängiger Ausbruch der Erkrankung /80/
- niedrigste Expositionskonzentrationen können pathogen wirken /80/
- niedrige Erkrankungszahl bei Berylliumexponierten (unter 1%) /108/
- erhöhte Anfälligkeit des weiblichen Geschlechts für chronische Berylliose, möglicherweise als Ausdruck der bei Frauen geringeren Transportkapazität des Lymphsystems /24,83/
- erhöhte Lymphocytentransformation bei Personen mit chronischer Berylliose /27,32,95/
- passive Übertragbarkeit der Berylliumallergie durch Lymphocyten sensibilisierter Tiere /29/
- Bildung eines Makrophagen-Inhibitionsfaktors nach Kontakt mit Lymphocyten sensibilisierter Tiere /57,77,101/
- Immunisierbarkeit von Meerschweinchen gegen Beryllium /81,82/

- Spätreaktionen im Hauttest ("Patch-Test") mit Berylliumverbindungen /22,23/
- Therapieerfolge mit Corticoiden
- Veränderungen der Serumimmunglobuline bei Berylliose-Patienten /56,72,131/.

Da Beryllium wegen seiner einfachen chemischen Struktur kein eigenständiges Allergen darstellen kann, wird die Bindung an eines oder verschiedene Proteine im Körper wahrscheinlich, wobei gegen diesen Hapten-Protein-Komplex Antikörper gebildet werden können.
Sowohl bei Berylliosepatienten als auch bei klinisch gesunden, berylliumexponierten Arbeitern konnten antinucleäre und antimitochondriale Antikörper nachgewiesen werden /29/. Die granulomatöse Form der Lungenberylliose zeigt besonders deutlich Ähnlichkeiten zu den Kollagenosen. Man findet berylliuminduzierte Antikörper gegen Lunge, Leber, Herz, DNS und RNS, wobei das Vorhandensein solcher Antikörper nicht an klinische Berylliosesymptome gebunden sein muß /3/.

ALEKSEEVA /3/ vermutet in Übereinstimmung mit CLARY /16/ einen endogenen Faktor, bei dessen Wirkung sich ein Toleranzverlust gegen körpereigene Gewebe entwickelt und die chronische Berylliose zum Ausbruch gelangen kann, wodurch sich auch die Latenzzeit erklären ließe. Weitere immunologische Befunde bei der Berylliose zeigen Veränderungen auf humoraler Ebene mit Erhöhung der IgG- und IgA-Fraktionen der Serumimmunoglobuline /27,14/ und Tendenz zur Verringerung der IgM-Fraktion /14/. Bei IgG-Veränderung konnte keine Korrelation zur Größe des IgG-gebundenen Berylliums gefunden werden /103/.
Diese und weitere Befunde, insbesondere durch Nachweis zellgebundener Reaktionen bei der chronischen Berylliose machen es zur Zeit am wahrscheinlichsten, daß die chronische Berylliose als zellvermittelte Allergie vom verzögerten Typ (Typ IV nach GELL und COOMBS) entsteht. Der Einfluß des chemischen Allergens Beryllium bewirkt in besonders eindrucksvoller Form bei der granulomatösen Berylliose einen Toleranzverlust für eigene Gewebesstrukturen, was sich in der Bildung von Autoantikörpern äußert, die zunächst ohne klinische Symptomatik im Serum nachweisbar sind. Die klinische Manifestation der chronischen

Berylliose wird wahrscheinlich durch einen endogenen Faktor eingeleitet, der außer den bereits genannten auch in einer Schädigung der T-Suppressor-Zellen des lymphatischen Systems erscheinen könnte.

Wenngleich die Komplexität der möglichen immunologischen Reaktionen bei der Entstehung der chronischen Berylliose einer weiteren experimentellen Klärung bedarf, so darf zum jetzigen Zeitpunkt die autoimmunologische Genese mit spezifischer, zellgebundener und unspezifischer, humoraler Allergiereaktion als weitgehend gesichert gelten.

III. EXPERIMENTELLER TEIL

1. Vorbemerkung zur Zielsetzung des experimentellen Teils und zur Voraussetzung der gewählten Versuchsmethodik

Ziel des experimentellen Teils der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Immunantwort von kultivierten Lymphocyten des peripheren Blutes einer Personengruppe, welche in einem Forschungslabor mit den verschiedensten Berylliumverbindungen arbeitet.
Es wurde eine Aussage angestrebt, ob sich die lymphocytäre Reaktion dieser Gruppe von jener eines Nullkollektivs unterscheiden läßt, die Berylliumkontakt nur im Bereich der unvermeidbaren Allgegenwartskonzentration hat.
Die Versuchsmethodik basiert auf der Überlegung, daß es sich bei der chronischen Berylliose um eine Erkrankung mit spätallergischem Charakter handelt, die durch zelluläre Reaktionen, vorwiegend durch T-Lymphocyten, entsteht.
Bereits in früheren Arbeiten des Institutes /5,127/ konnten nach inhalativer Berylliumexposition an Ratten und Meerschweinchen spezifische Immunantworten nachgewiesen werden. In der Literatur finden sich weiterhin Stellen, wo bei Patienten mit manifester Berylliose durch verschiedene immunologische Untersuchungsmethoden spezifische, in vivo durch Beryllium hervorgerufene Immunreaktionen gesehen wurden /27,32,95,43/.

Bei vorliegender Arbeit wurde als immunologische Untersuchungsmethode der Lymphocytentransformationstest gewählt.
Im Gegensatz zu bisherigen Arbeiten konnte bei der untersuchten Personengruppe in dieser Arbeit keine homogene Expositionssituation vorausgesetzt werden, da die Konfrontation mit dem Werkstoff Beryllium in den verschiedensten Bearbeitungsstufen erfolgt. Durch gezielte Schutzvorrichtungen konnte - ausgenommen wenige Unfallsituationen in früheren Jahren - der MAK-Wert und zuletzt die TRK eingehalten werden.

Die gewählte Untersuchungsmethode stellt somit auch die Prüfung einer arbeitsmedizinischen Vorsorgeuntersuchung dar, mit der zelluläre Immunitätseffekte innerhalb arbeitshygienisch zulässiger Grenzwertkonzentrationen von Berylliumverbindungen rechtzeitig erkannt werden sollen.

2. Die Methodik des Lymphocytentransformationstestes (LTT) und seine praktische Anwendung

Lymphocyten des peripheren Blutes lassen sich unter geeigneten Bedingungen (Temperatur, pH-Wert, Energieträger) in Kulturmedien mit autologem Serum mehrere Tage am Leben erhalten, wobei wenige Zellen in Teilung gehen und sich keine nennenswerten Veränderung der Morphologie ergeben. Nur 0,1% der Zellen sind zur spontanen DNS-Synthese befähigt /12,97/. Nach Zugabe bestimmter Stimulantien zu der Kultur entsteht eine deutliche Aktivierung des Stoffwechsels der Lymphocyten, wie von HUNGERFORD /53/ und NOWELL /73/ am Beispiel des Phytohämagglutinins (PHA) erstmals beschrieben.
Es kommt zu häufigen Zellteilungen mit vermehrter DNS- und RNS-Synthese nach ca. 24 Stunden, Ausbildung von Mitosen und Entstehung großer, lymphoblastenartiger Zellen mit typischen, lichtmikroskopisch nachweisbaren Veränderungen der Zellmorphologie /12,49,50,60/:

- Kernhyperplasien bis zu 16 µm
- Vermehrung retikulärer Kernstrukturen
- zunehmende Basophilie des Cytoplasmas als Zeichen der DNS-Synthese
- deutliche Ausbildung von Nucleolen
- Verschiebung der Kern-Plasma-Relation zugunsten des Plasmas
- vermehrte Vakuolisierung des Cytoplasmas

Elektronenoptisch läßt sich bei den aktivierten Lymphocyten die Ausprägung und Vermehrung subzellulärer Strukturen nachweisen /52/.

50% bis 90% der Lymphocyten gesunder Probanden können diese Veränderungen zeigen /11,12,95/, die als "Transformation" bezeichnet werden. Um Verwechslungen mit dem in der Virologie gebräuchlichen Terminus zu vermeiden, wird für die beschriebenen lymphocytären Reaktionen die Bezeichnung "Stimulation" vorgeschlagen /12/.
Von der Stimulation vorwiegend betroffen sind die T-Lymphocyten als Träger der zellvermittelten Immunitätsreaktionen /39,60/.
Die durch PHA und einige weitere Stoffe /12/ auslösbare Stimulation betrifft die Lymphocyten gesunder Probanden in quantitativ ähnlichem Ausmaß ohne Berücksichtigung zellgebundener, spezifischer Antigenbindungsstellen und wird daher auch als unspezifische Stimulation bezeichnet /12,97/.

Die spezifische Stimulation von T-Lymphocyten erfolgt mit solchen Antigenen, für welche der Verdacht einer Sensibilisierung gegen die Spenderlymphocyten besteht.
Nach Kontakt des Antigens mit seiner determinanten Gruppe auf der Zelloberfläche entstehen nach mehreren Zellteilungen aus einem stimulierten Lymphocyten Tochterzellen, die mit identischen Paratopen versehen als Effektor- oder Gedächtniszellen fungieren /60/.
Bei der spezifischen Stimulation setzt das Maximum der DNS-Synthese verspätet ein (5.-6. Tag nach Kulturansatz) und die Zahl der reagierenden Zellen ist mit 5% bis 50% deutlich vermindert, was als Ausdruck vorwiegender Reaktion der immunkompetenten T-Lymphocyten gewertet werden kann /12/.
SIMON /97/ konnte bei der spezifischen Stimulation die Bildung von Immunglobulinen nachweisen, die zur Antigenbindung fähig waren.

Bei der praktischen Anwendung des Lymphocytentransformationstestes macht man sich die beschriebenen Veränderungen zunütze und quantifiziert das Stimulationsergebnis nach 3 bis 6 Tagen Inkubation unter standardisierten Bedingungen von Spenderlymphocyten und vermutlich auslösendem Antigen.

Hierbei bedeutet die in der vorliegenden Arbeit verwendete Mikrovollblutmethode /49/ in modifizierter Form eine erhebliche Vereinfachung der praktischen Handhabung des Testes im Vergleich zu den separierten Leukocytensuspensionen bei ebenbürtigen Ergebnissen /49,50/.

Zur Auswertung des Inkubationsergebnisses stehen verschiedene Methoden zur Verfügung.
Autoradiographie und Szintillationszählung beruhen auf dem Einbau radioaktiv markierter Substanzen in die Lymphocyten und lassen somit Rückschlüsse auf das Maß der Stoffwechselaktivität von RNS und DNS zu. Die Methoden sind schwer standardisierbar und die Einbauraten variieren in weiten Grenzen. Schädigung der inkubierten Zellen durch Strahlung ist möglich /66/.
Vorteil dieser Auswertungsmethoden ist das Fehlen von subjektiven Einflüssen auf die Ergebnisse.

Die Phasenkontrastmikroskopie erfordert einen hohen labortechnischen Aufwand und ist wegen des hohen Zeitaufwandes für Routineuntersuchungen nicht geeignet. Jedoch ist die Lebendbeobachtung der Zellkinetik möglich /5,40/.

Bei der lichtmikroskopischen Auswertung werden nach Beendigung der Kulturdauer Objektträgerausstriche angefertigt und die Lymphocyten nach Art eines Differentialblutbildes begutachtet. Dabei zeigt sich, daß nach erfolgter Inkubation der Großteil der neutrophilen Granulocyten zugrunde gegangen ist, während eosinophile Leucocyten häufig und basophile Leucocyten gelegentlich vorgefunden werden. Außerdem sieht man große Monocyten mit Vakuolisierung und Zelltrümmer /5,40,66, 73/.
Die Lymphocyten des Ausstriches werden anhand definierter morphologischer Kriterien als "stimuliert" qualifiziert und die Zahl der stimulierten Lymphocyten prozentual auf die Gesamtzahl der ausgezählten Lymphocyten bezogen und als Transformationsrate bezeichnet.
Von Vorteil bei der lichtmikroskopischen Auswertung ist die individuelle Betrachtung jeder Zelle, was allerdings die Auszählung einer statistisch verwertbaren, hohen Zellzahl erfordert, woraus ein hoher Zeitaufwand resultiert.

Als weiterer Nachteil ist das Eingehen von subjektiven Größen bei der Zellbeurteilung und die schlechte Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu nennen /12/. Dieser Nachteil kann jedoch weitgehend durch Doppelblindversuche und "Kontrollauswerter" behoben werden.

Der LTT kann angewendet werden beim Nachweis zellgebundener Immunreaktionen wie dem Tuberkulinnachweis oder zur Erkennung von Immuninsuffizienzen, die mit einer Abnahme der Stimulierbarkeit von Lymphocyten korrelieren, z.B. bei M. Hodgkin. Fernerhin bestehen Einsatzmöglichkeiten bei der Diagnostik von Autoimmunerkrankungen mit Nachweis der Autoantigene (z.B. Kollagenosen, Lupus erythematodes) /63/.

In der Bewertung von Ergebnissen des LTT müssen verschiedene Störeinflüsse beachtet werden, z.B. :

- Immunstatus des Probanden und dessen Zellreagibilität ist unbekannt /53/
- Antibiotika und andere Pharmaka können schwach stimulierend wirken /49/
- Aktivierung der Zellen durch Lymphokine möglich /60/
- Stimulation der Lymphocyten ist carrierspezifisch, d.h. falsch-negative Resultate trotz Sensibilisierung gegen das Hapten bei einem ungeeigneten Proteincarrier /49,66/
- Beeinflussung durch andere Metallionen möglich /9/
  Hemmung durch Mn, Co, Cd, Cu und Ni
  Stimulation durch Zn und Mg

3. Versuchsbeschreibung und Versuchsdurchführung

3.1. Beschreibung der untersuchten Personengruppe und deren berufliche Tätigkeitsmerkmale

Zur Durchführung eines Lymphocytentransformationstestes wurden 18 Personen ausgewählt, die in einem Labor bei der Grundlagenerforschung von Beryllium und seinen Verbindungen eingesetzt sind.
Die Gruppe bestand aus 13 Männern und 5 Frauen mit einer Altersstrukturierung zwischen 23 und 45 Jahren. Die Probanden besaßen zumeist die Berufsbezeichnung "Chemielaborant" oder "Techniker"; zwei der Frauen waren mit der Reinigung des Labors und dem Besorgen der Schutzkleidung beschäftigt.
Die Probanden befassten sich vorwiegend mit der Bearbeitung und Verarbeitung berylliumhaltiger Werkstücke, z.B. in Form von Schleifen, Pressen, Mahlen, Sintern, Schmelzen, Glühen, Schneiden mit Funkenerosion. Sie kamen bei diesen Arbeiten mit den verschiedensten Berylliumverbindungen in Kontakt, wobei die strengen Sicherheitsbestimmungen beim Umgang mit den Verbindungen weitgehend gewahrt waren: So müssen die Arbeiten in geschlossenen Boxen mit Zugang über Handschuhöffnungen durchgeführt werden, bei gleichzeitigem Tragen von spezieller Schutzkleidung. Direkter Hautkontakt mit den Werkstoffen ist bei Einhalten der Sicherheitsbestimmungen selten. Die Atmosphäre im Kontrollbereich wird regelmäßig mit der Atomabsorptionsphotospektrometrie auf ihren Berylliumgehalt überprüft, wobei die Ergebnisse im allgemeinen weit unter der früheren Unbedenklichkeitsgrenze von 2 $\mu g/m^3$ liegen. Die Unsicherheiten, die von der Definition einer Unbedenklichkeitsgrenze für Berylliumkonzentrationen ausgehen, machen diese strengen Sicherheitsbestimmungen erforderlich und unterstreichen die Bedeutung eines arbeitsmedizinischen Vorsorgeprogramms.

3.2. Unterteilung in Gefährdungsstufen

Da die Probanden sehr unterschiedlichen Kontakt zu den Berylliumverbindungen aufwiesen, sowohl zum Zeitpunkt der Untersuchung als auch im Zeitraum vor der Untersuchung, wurde die Einteilung in verschiedene Gefährdungsstufen angestrebt.
Hierzu wurde von jedem Probanden eine "Berylliumanamnese" erhoben, in welcher die nachstehenden Punkte gezielt exploriert wurden:

- Beschreibung der Tätigkeit
- Beschreibung häufig wiederkehrender Arbeitsvorgänge
- Dauer der vorbestehenden Exposition mit Beryllium und Berylliumverbindungen
- Dauer der durchschnittlichen täglichen Belastung während dieser Zeit
- vorwiegende Form der physikalischen Beschaffenheit der bearbeiteten Verbindungen
- berylliumfreie Intervalle
- Einschätzung der Resorptionsmöglichkeiten für den Organismus
- kurzfristig erhöhte Expositionen (z.B. durch Unfälle, Undichtigkeiten im Kontrollbereich etc.)
- allgemeine Fragen zum klinischen Status (z.B. rezidivierende Bronchitiden, Rauchgewohnheiten, bekannte Allergien, Medikamenteneinnahme etc.)

Nach Erhebung dieser Daten und Besichtung der Arbeitsplätze, sowie nach Diskussion der Gefährdungsmöglichkeiten an diesen Arbeitsplätzen mit dem Sicherheitsbeauftragten des Labors erfolgte die Erstellung von drei Gefährdungsstufen, in welche die Probanden nach Würdigung ihrer individuellen Gesamterhebung eingeordnet wurden.

Als vorrangige Kriterien zur Zuordnung in eine der drei Stufen wurden die Gesamtdauer der bisherigen Exposition und die vorwiegende Beschaffenheit der bearbeiteten Materialien herangezogen, wobei eine abnehmende Wertung in den physikalischen Erscheinungsformen "pulverförmig", "flüssig" und "fest" vorgenommen wurde.
Probanden in der höchsten Gefährdungsstufe (Stufe I) mußten zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung täglich mindestens 4 bis 6 Stunden im Kontrollbereich beschäftigt sein.
Ein derartiger Einteilungsmodus, der im wesentlichen auf empirischer Grundlage erstellt wird, beinhaltet trotz genauer Exploration der Probanden einige objektiv nicht faßbare Kriterien. So ist es im Einzelfall äußerst schwierig, eine lange Zeitspanne mit vorwiegendem Berylliumkontakt in fester Form gegen eine kurze, aber intensive Exposition mit flüssigen oder staubförmigen Verbindungen abzuwägen.

Zusätzlich zu dem beschriebenen Probandenkollektiv mit beruflicher Berylliumgefährdung wurden die Lymphocyten eines Nullkollektivs einem LTT unterzogen.
Diese "Nullprobanden" waren von der Altersstrukturierung vergleichbar und hatten bis zum Zeitpunkt der Untersuchung keinerlei bekannten Kontakt mit Berylliumverbindungen, der über die unvermeidbare Allgegenwartskonzentration hinausgegangen wäre.

3.3. Benötigte Materialien für den Lymphocytentransformationstest

Dampfdruckautoklav, Sterilbox, Inkubator, Zentrifuge, Magnetrührer mit Stab

diverse Bechergläser, Pinzetten, Schere, Mikropipetten und Pipettenspitzen verschiedener Größe, Seripettor^{R} für Serienpipettierungen, Polystyrol-Reagenzgläser (kobaltsterilisiert; Fa. Greiner), Einmal-Handschuhe, Einmalspritzen verschiedener Größen

Pro Kulturansatz für 6 Probanden wurde an Reagenzien benötigt:
100 ml Kulturmedium RPMI 1640, gepuffert und L-Glutamin-versetzt (Fa. Serva)
20 ml fötales Kalbsserum (Fa. Serva)
6 ml Penicillin-Streptomycin (Fa. Serva)
5000 IE Heparin (Liquemin^{R})
Isotonische Kochsalzlösung und Aqua bidest. pro injectione
Phytohämagglutinin-Stammlösung (Fa. Serva)
$BeSO_4$-Stammlösung in vier verschiedenen Konzentrationen, sterilfiltriert

Objektträger zum Ausstreichen der inkubierten Zellen
Wrights-Eosin-Methylenblau zur Fixierung und Färbung der Zellen
Leitz-Orthoplan-Mikroskop mit 1000-facher Vergrößerung und Ölimmersion

3.4. Voraussetzungen bei der Arbeit mit Zellkulturen

Das Arbeiten mit Zellkulturen in vitro erfordert die Beachtung von Sterilitätskautelen.
Alle verwendeten Instrumente oder Reagenzien, die vom Hersteller nicht in steriler Form bereitgestellt wurden, mußten je nach Beschaffenheit im Dampfdruckautoklaven sterilisiert, in 5%-iger Sagrotanlösung gewaschen oder mit einem Membranfilter sterilfiltriert werden.
Sämtliche Manipulationen an den Kulturen oder beim Vorbereiten des Kulturmediums erfolgten in einer Sterilbox, die in der Vorderwand zwei Durchgreiföffnungen für die Arme enthielt. Die Sterilbox ist ein allseitig umschlossener Kunststoffkasten mit aufklappbarer Vorderwand. Die Arbeitsplatte besteht aus einem gut desinfizierbaren Hartfaserkunststoff. In die Rückwand ist ein Ventilator eingebaut, durch welchen sich ein feiner, kontinuierlicher Luftstrom in Richtung der Vorderwand erzeugen läßt. Dadurch kann das Eindringen von aerogenen Keimen durch die Armöffnungen weitgehend verhindert werden.
Vor Arbeitsbeginn erfolgte chirurgische Hand- und Armdesinfektion.

3.5. Vorversuch zur Festlegung einer geeigneten PHA-Konzentration

Neben der spezifischen Stimulation durch verschiedene Berylliumkonzentrationen sollte für jeden untersuchten Probanden eine "Negativkultur" mit physiologischer Kochsalzlösung und eine "Positivkultur" mit unspezifischer PHA-Stimulation angelegt werden.
Die NaCl-Kultur dient zur Erfassung der Background-Stimulation und mit der PHA-Kultur sollte ein Eindruck von der unspezifischen Reaktionsfähigkeit der untersuchten Spenderlymphocyten gewonnen werden.
Stimulationsraten von Lymphocyten gesunder Probanden nach unspezifischer PHA-Aktivierung werden mit 50% bis 90% angegeben /11,12,95/, wobei durch Variation der verwendeten PHA-Konzentration und durch individuelle Einflüsse deutliche Schwankungen möglich sind.

In einem Vorversuch sollte deshalb eine PHA-Konzentration ermittelt werden, durch welche bei der positiven Kontrollkultur im Hauptversuch optimale Stimulation der untersuchten Lymphocyten erzielt werden konnte.
Mit der im Hauptversuch beschriebenen Technik wurde eine Vorkultur angelegt, in welcher die Lymphocyten eines Nullprobanden mit verschiedenen PHA-Konzentrationen inkubiert und nach 5 Tagen ausgewertet wurden.
Zur Herstellung der verschiedenen PHA-Konzentrationen wurden aus einer Stammlösung (1 mg PHA/ml) mehrere Zwischenkonzentrationen so angelegt, daß bei Entnahme von jeweils 0,1 ml aus einer Zwischenkonzentration und Zugabe zu 5 ml Kulturmedium die gewünschte Endkonzentration im Kulturgefäß entstand.
Abbildung 8 und Tabelle 3 zeigen die Abhängigkeit der Transformationsrate von der zugefügten PHA-Menge.

Tabelle 3:

Abhängigkeit der unspezifischen Transformation von der zugefügten PHA-Menge

Verdünnungsverhältnis zur Stammlösung	PHA-Zugabe zu 5 ml Medium (Mikrogramm)	Transformation in %
1 : 1	1000	3
1 : 50	100	48
1 : 100	50	65
1 : 200	25	70
1 : 400	12,5	45
1 : 800	6,25	10
1 : 1600	3,125	4

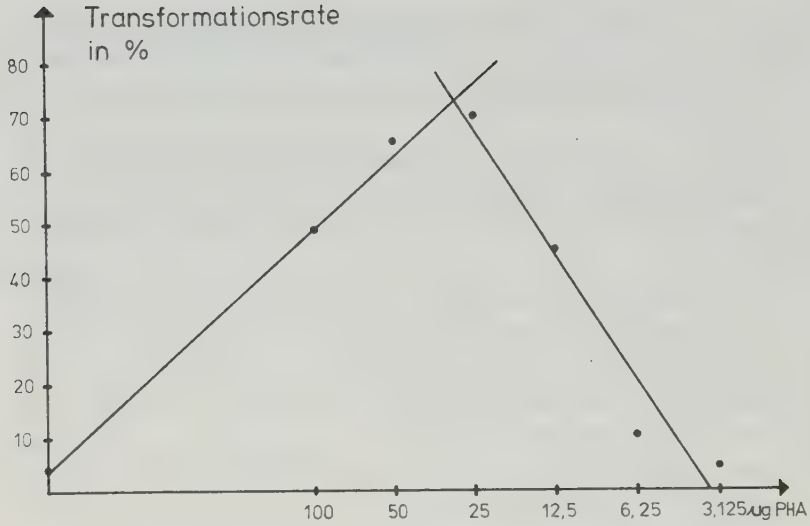


Abb.8:

Abhängigkeit der Transformationsrate von der zugegebenen PHA-Menge bei einem Nullprobanden

Abszisse: µg PHA in 5 ml Kulturmedium (logarithm.)
Ordinate: Transformationsrate in %

Die graphische Darstellung mit logarithmischem Auftragen der zugefügten PHA-Menge auf der Abszisse ergibt zwei Geraden, die sich im Bereich von 25 µg PHA-Zugabe zu 5 ml Kulturmedium schneiden und das Maximum der Stimulation mit 70% Transformationen anzeigen.
Dies entspricht einer optimalen Stimulation bei einem Verdünnungsverhältnis von 1:200 zur Stammlösung.
Die zunehmende Stimulation bei abnehmender PHA-Konzentration im ersten Teil der Graphik erklärt sich durch die hohe toxische Wirkung des PHA bei höherer Konzentration und deutlicher Aktivitätszunahme der Lymphocyten bei abnehmender Konzentration, die nach dem Durchlaufen eines Optimums wieder gegen Null geht.

Mit der im Vorversuch bestimmten optimalen Stimulationskonzentration konnte allerdings im Hauptversuch keine Stimulation über 70% erzeugt werden. Als Erklärung dient die individuelle Schwankungsbreite bei der PHA-Aktivierung und die Beschränkung des Vorversuches auf die Lymphocyten nur eines Probanden. Schließlich kann auch diskutiert werden, ob zivilisatorische Fakten eine Beeinflussung der T-Lymphocyten-Aktivität mit sich bringen.

3.6. Vorversuch zur Festlegung einer geeigneten Vollblutmenge als Zugabe zu der Lymphocytenkultur

Die Durchführung eines LTT mit der Mikrovollblutmethode bedeutet eine erhebliche Vereinfachung des Verfahrens, da die Leucocyten nicht aus der Korpuskulärphase des Blutes abgetrennt werden müssen, was mitunter eine diffizile Manipulation darstellen kann /49/.
Weitere Vorteile dieser Methode sind die Aufrechterhaltung des physiologischen Blutzellverbandes mit seinen zellulären Interaktionen und die Schonung der Blutzellen durch Wegfall einiger Präparationsmaßnahmen /76/.
Als Nachteil zu werten ist der hinzukommende Stoffwechsel der Erythrocyten mit pH-Beeinflussung, Elektrolytverschiebungen, Änderungen der Zellpermeabilität und eventuell auftretende Hämolysen /93/.
Da sich bei der Mikrovollblutmethode mit zunehmender Leucocytenzahl in der Kultur die Zahl der mitinkubierten Erythrocyten zwangsläufig erhöht, sollte in einem weiteren Vorversuch die Beeinflussung von pH-Wert und Transformationsrate durch die zugegebene Vollblutmenge untersucht werden und eine geeignete Vollblutmenge als Zugabe zu den Hauptkulturen gefunden werden.
Dazu wurde entsprechend der im Hauptversuch beschriebenen Technik eine zweite Vorkultur angelegt.
Bei einem Nullprobanden wurden zur Doppelbestimmung zweimal 4 ml Venenblut entnommen und sofort in je ein Waschröhrchen mit 5 ml Kulturmedium gegeben und bei 2000 UpM 3 Minuten zentrifugiert, um die Korpuskulärphase zu sedimentieren.

Nach Zentrifugation wurden vom Überstand genau 7 ml abgehoben, und der verbleibende Überstand mit den Zellen nach vorsichtigem Schütteln in eine 2ml- Einmalspritze aufgezogen. Mehrere zuvor durchgeführte Abtropfversuche mit dem aufgezogenen Zellkonzentrat ergaben für 2 ml 40 Tropfen +/- 1 Tropfen.
11 Kulturgefäßen mit PHA 1:200 wurde jetzt tropfenweise Zellkonzentrat zugefügt, wobei das erste Gefäß ohne Zellen, daß zweite mit einem Tropfen, das dritte mit zwei Tropfen usw. inkubiert wurde.
In gleicher Weise erfolgte die Beschickung und Inkubation einer weiteren Kulturreihe mit 0,9%igem NaCl-Zusatz. Nach Inkubationsende wurde der pH-Wert in den einzelnen Kulturgefäßen bestimmt.
Tabelle 4 und Abbildung 9 zeigen den Zusammenhang zwischen der applizierten Tropfenzahl des Zellkonzentrates und dem pH-Wert bei Kulturende in den Einzelgefäßen bzw. Inkubationsreihen.

TABELLE 4:

Zusammenstellung der pH-Werte bei Kulturende in Abhängigkeit von der zugegebenen Tropfenzahl Zellkonzentrat
Transformationsraten in der PHA - Kultur

Tropfen Zellkonzentrat	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
pH - Wert bei NaCl	7,83	7,55	7,29	7,31	7,23	7,18	7,09	7,07	7,01	6,94	7,11
pH - Wert bei PHA	7,84	7,48	7,25	7,12	7,01	6,98	6,96	6,9	6,88	6,84	6,87
Transformation bei PHA in %	0	75 84	76 82	64 73	78 81	86 74	74 82	75 86	71 73	74 74	78 80

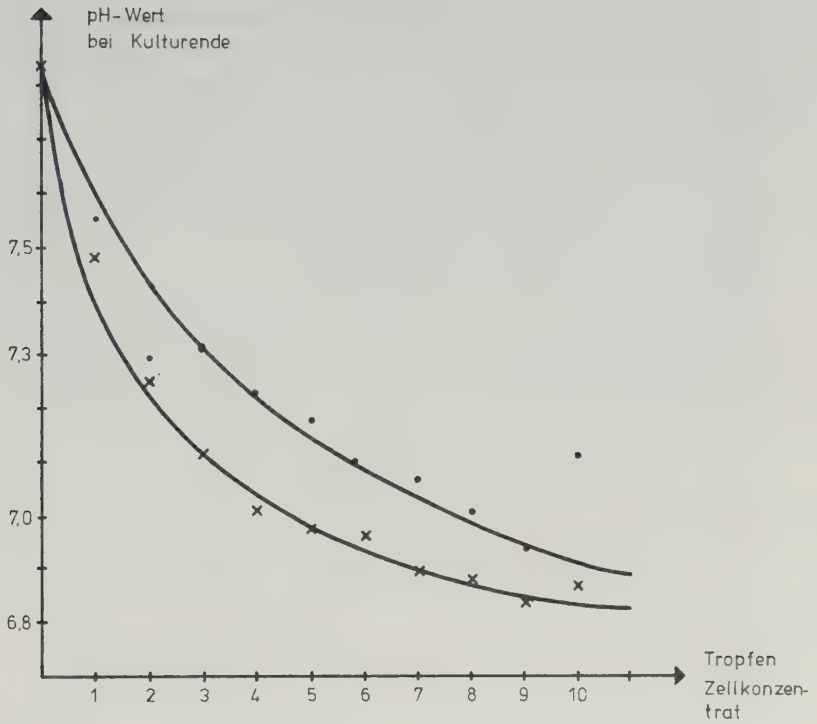


Abb. 9:

Zusammenhang zwischen der Tropfenzahl Zellkonzentrat pro Kulturgefäß und dem pH-Wert bei Kulturende

NaCl: ●——●

PHA: ×——×

Fällt während der Inkubationsperiode der pH-Wert zu schnell ab, so können sich ungünstige Auswirkungen auf den Stoffwechsel der Lymphocyten ergeben /93/. Es ist deshalb erforderlich, bei Inkubationsende einen pH-Wert anzustreben, der möglichst nahe am physiologischen Bereich von 7,35 bis 7,45 liegt.
Eine Möglichkeit der pH-Anpassung ist die Nachtitrierung der Kulturen während der Inkubationsperiode. Dadurch wird allerdings die Homogenität des Zellstoffwechsels gestört und ein erhebliches Kontaminationsrisiko für die Kulturen in Kauf genommen.
Durch Variation in der zugefügten Menge Vollblutkonzentrat kann die Entwicklung des pH-Wertes in den Kulturen ebenfalls beeinflusst werden (siehe Abbildung 9). Im vorliegenden Fall wäre eine Zugabe von 1-2 Tropfen mit einem günstigen pH-Wert bei Kulturende verbunden. Dem steht die Empfehlung von HEITMANN /49,50/ entgegen, der pro Milliliter Kulturmedium 1 x 10^6 Leucocyten für erforderlich hält.
Bei einer mittleren Leucocytenzahl von 7,2 x 10^6 pro Milliliter im peripheren Blut der Probanden und Gabe von 6 Tropfen Zellkonzentrat in die Einzelgefäße konnte mit einer durchschnittlichen Leucocytenzahl von 0,864 x 10^6 pro Milliliter Kulturmedium gerechnet werden, womit der Empfehlung von HEITMANN weitgehend gefolgt worden wäre. Allerdings mußte dabei im günstigsten Falle bei NaCL-Kulturen mit einem Endwert des pH von 7,1 bzw. im ungünstigsten Fall bei PHA mit 6,96 bei Inkubationsende gerechnet werden. Die pH-Wert-Verläufe bei den verschiedenen Berylliumsulfatkonzentrationen konnten zwischen den Kurven der Abbildung 9 erwartet werden.
Um Beeinträchtigungen der Stimulationsraten durch den pH-Wert zu erkennen, wurde die Stimulationsrate von PHA 1:200 in Abbildung 10 in Abhängigkeit vom gemessenen pH-Wert bei Beendigung der Inkubationsperiode aufgetragen.
Dabei konnte keine Beeinflussung der Transformationsraten durch den pH-Wert im betroffenen Meßbereich gefunden werden, so daß für den Hauptversuch eine Zugabe von 6 Tropfen Zellkonzentrat zu den Kulturen mit 5 ml Medium unbedenklich erschien.

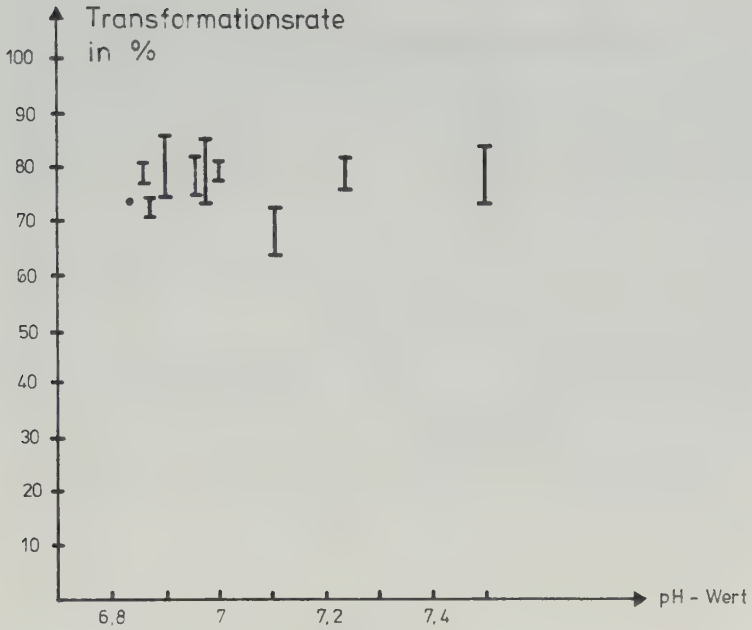


Abb. 10:

Transformationsrate in einer PHA – Kultur (1:200) in Abhängigkeit vom Endwert des pH bei Kulturende

3.7. Durchführung des Lymphocytentransformationstestes

Nach chirurgischer Händewaschung wurden die zuvor gereinigten und desinfizierten Arbeitsmaterialien (Reagenzglasständer, Mikropipetten, sterilverpackte Polystyrolröhrchen, Reagenzbehältnisse) in die vorbereitete Sterilbox verbracht.
Eine erste Gerätefraktion (Bechergläser, Pinzetten, Schere), zwischenzeitlich bei 130°C für 20 Minuten im Autoklav sterilisiert, wurde ebenfalls in die Sterilbox eingebracht.
Im sterilen Bereich wurde nun die erforderliche Anzahl der Reagenzgefäße vorbereitet und in die Ständer gestellt. Da die Lymphocyten jedes Probanden mit 6 verschiedenen Stimulantien versetzt werden sollten und Doppelbestimmungen vorgesehen waren, wurden pro Proband 2 x 6 Reagenzgläser für die eigentliche Kultur und 2 x 1 Reagenzglas als Waschröhrchen für Vollblut vorbereitet.
Zur Herstellung des Kulturmediums erfolgte Mischung von 100 ml RPMI 1640 mit 20 ml fötalem Kalbsserum, welches zuvor bei 56°C für 30 Minuten hitzeinaktiviert werden mußte. Aus Sicherheitsgründen wurde diesem Gemisch 6 ml Penicillin-Streptomycin zugesetzt, falls trotz aller gegenteiligen Maßnahmen doch eine Infektion mit einem Mikroorganismus erfolgt wäre. Zur Vermeidung von Koagulationen nach Zellzugabe wurden 5000 IE Heparin (Liquemin^{R}) dem Kulturmedium beigegeben. Das Kulturmedium konnte jetzt in den zuvor sterilisierten Seripettor^{R} abgefüllt werden und nach Hinzufügen eines sterilen Magnetrührstabes aus der Sterilbox hinausgereicht und auf dem Magnetrührgerät 10 Minuten durchmischt werden. Durch eine zuvor verschlossene Bohröffnung der Sterilbox wurde der Ausstoßstutzen des Seripettor^{R} von innen nach außen durchgeführt und außerhalb mit diesem verbunden. Damit bot sich eine bequeme Möglichkeit, ohne Verletzung der Sterilitätsanforderungen die Serienpipettierung von außen durchführen zu lassen.
Die ersten zwei bis drei Milliliter des Kulturmediums wurden verworfen und anschließend eine Probe genommen, um den vom Hersteller bereits eingestellten pH-Wert zu kontrollieren.
Es mußten in keinem Fall Nachkorrekturen vorgenommen werden.

Nunmehr konnte die Abfüllung der Einzelgefäße mit jeweils 5 ml Kulturmedium durchgeführt werden, wobei pro Kulturtag 6 Probanden einbestellt wurden und somit 84 Gläschen abgefüllt werden mußten.

Nach Beendigung der vorbeschriebenen Maßnahmen konnten die Stimulantien zu den mit Kulturmedium abgefüllten Röhrchen zugegeben werden. Als spezifisches Stimulans wurde Berylliumsulfat ($BeSO_4$) in vier verschiedenen Konzentrationen gewählt. In Anlehnung an frühere Arbeiten des Institutes /5,127/ erfolgte die spezifische Stimulation mit 10 µg, 1 µg, 0,1 µg und 0,01 µg $BeSO_4$. Die positive Kontrollkultur erfolgte mit PHA 1:200 wie im Vorversuch ausgeführt. Als negative Kontrollkultur wurde mit physiologischer Kochsalzlösung gearbeitet.

Die Berylliumsulfatlösungen und die PHA-Lösung wurden in Zwischenkonzentrationen so angelegt, daß bei Entnahme von 0,1 ml und Zugabe zu 5 ml Kulturmedium die gewünschte Endkonzentration im Kulturgefäß entstand.

Die Kulturgefäße wurden mit den jeweiligen Stimulantien dotiert, wie in Abbildung 11 schematisch dargestellt. Für eine Inkubationsserie wurden 6 Probanden einbestellt. Nach sorgfältiger Desinfektion der Punktionsstelle in der Ellenbeuge und Entnahme von 10 ml Nativblut erfolgte die Zugabe von je 4 ml des Nativblutes zu einem Waschröhrchen mit 5 ml Kulturmedium. Die verbleibenden 2 ml Blut dienten zur Zählung der Blutzellen und Anfertigung eines Differentialblutbildes bei jedem Probanden, um einen Eindruck von der individuellen Leucocytenverteilung zu erhalten.
Durch vorsichtiges Schütteln der Waschröhrchen erreichte man die Durchmischung der Nativblut-Medium-Phasen, welche nunmehr bei 2000 UpM für 3 Minuten zentrifugiert wurden. Nach Zentrifugation und Abziehen von 7 ml klaren Überstandes konnte das Zellsediment mit den verbleibenden 2 ml des Überstandes resuspendiert und in eine 2 ml-Spritze aufgenommen werden.

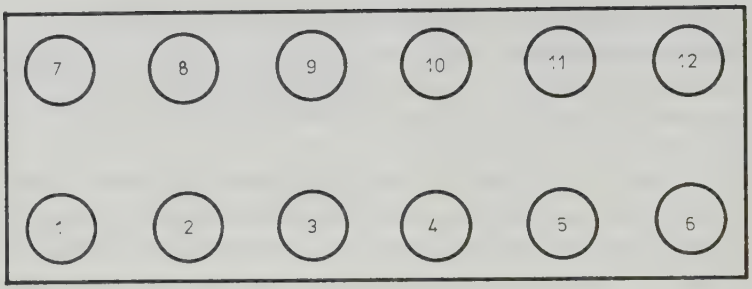


Abbildung 11:

Anordnung der einzelnen Kulturgefäße bei einem Probanden

Gefäß 1 +	7 : 0,1 ml	$BeSO_4$	100 µg/ml
" 2 +	8 : 0,1 ml	$BeSO_4$	10 µg/ml
" 3 +	9 : 0,1 ml	$BeSO_4$	1 µg/ml
" 4 +	10 : 0,1 ml	$BeSO_4$	0,1 µg/ml
" 5 +	11 : 0,1 ml	PHA	250 µg/ml
" 6 +	12 : 0,1 ml	NaCl	0,9 %

Von diesem Zellkonzentrat wurden 6 Tropfen in jedes Kulturröhrchen abgetropft entsprechend der Ausführungen im zweiten Vorversuch. Für die Doppelbestimmung wurde in gleicher Weise mit dem zweiten Waschröhrchen verfahren.

Zum Abschluß erfolgte die Überschichtung von jedem Kulturgefäß mit einem Gasgemisch aus 8% Sauerstoff, 12% Kohlendioxid und 80% Stickstoff, da eine niedrige O_2-Spannung die Stimulationsrate begünstigen soll /66/.
Nach Verschluß der Gläschen begann die Inkubationsphase mit einer Dauer von 5 Tagen bei 37°C.

3.8. Zellpräparation und lichtmikroskopische Auswertung

5 Tage nach Inkubationsbeginn konnten die Kulturen aus dem Wärmeschrank entnommen werden.
Bei keiner der durchgeführten Testreihen traten Hämolysen oder Infektionen auf.
Der Endwert des pH in den einzelnen Gefäßen bewegte sich im Mittel um 7,0 Einheiten mit einer einfachen Standardabweichung von 0,05 Einheiten.
Der Überstand in den Gefäßen wurde sehr vorsichtig abgehoben, um einen Verlust von Leucocyten zu vermeiden. Diese waren in der obersten, grau-weißlichen "buffy-coat"-Schicht enthalten, welche durch eine leichte Bewegung des Gefäßes mit den Resten des Überstandes in Suspension gebracht wurde. Mit einer Glaskapillare übertrug man wenig Suspension auf einen Objektträger und fertigte nach Art eines Differentialblutausstriches ein Präparat an, welches nach Lufttrocknung drei Minuten in Wrights-Eosin-Methylenblau-Lösung gefärbt wurde.

Vor Beginn der lichtmikroskopischen Begutachtung der Zellausstriche wurden die Markierungen der Objektträger überklebt, um somit die Auswertung objektiver gestalten zu können.
Bei der übersichtsmäßigen Durchmusterung der Ausstriche fanden sich neben Erythrocyten, normalen und veränderten Lymphocyten einige eosinophile und basophile Granulocyten, sowie wenig Monocyten und Zelltrümmer.
Die morphologische Begutachtung der Zellen erfolgte bei 1000facher Vergrößerung mit Ölimmersion. Jeder Ausstrich wurde auf 100 Lymphocyten untersucht, was einer Gesamtzahl von 400 Lymphocyten pro Stimulationsmodus entsprach.
Die Ausstriche wurden dabei mäanderförmig von oben nach unten abgefahren, um die bevorzugt an den Rändern liegenden großen Zellen mitzuerfassen /86/.
Ein Lymphocyt wurde als "stimuliert" qualifiziert, sofern mindestens drei der folgenden morphologischen Kriterien nachzuweisen waren /5/:

- Zellgröße über 14 µm
- Kerngröße über 7 µm
- großer, locker strukturierter Kern mit einem oder mehreren Nucleolen
- ausgeprägte Basophilie
- starke Vakuolisierung der Plasmas

Die Anzahl der stimulierten Lymphocyten wurde prozentual auf alle begutachteten Lymphocyten eines Stimulationsmodus bezogen und als "Transformationsrate in Prozent" bezeichnet.

3.9. Ergebnisse des Lymphocytentransformationstestes, in Diagrammform dargestellt :

1. Tabelle 5 bis 8

   Zusammenstellung der transformierten Lymphocyten in den Einzelkulturen und durchschnittliche Transformation in %

2. Tabelle/Graphik 9 bis 35

   Zusammenstellung der Transformationsraten bei den einzelnen Probanden.
   Darstellung des Mittelwertes mit den zugrundeliegenden Werten aus einer Kulturreihe

   Tabelle/Graphik 9 bis 14 : Gefährdungsstufe I
   Tabelle/Graphik 15 bis 22 : Gefährdungsstufe II
   Tabelle/Graphik 23 bis 26 : Gefährdungsstufe III
   Tabelle/Graphik 27 bis 35 : Kontrollgruppe

3. Abbildung 12

   Vergleichende graphische Darstellung der durchschnittlichen Transformationsraten der einzelnen Gefährdungsstufen und der Kontrollgruppe im Säulendiagramm.

4. Abbildung 13

   Zusammenfassende graphische Darstellung der durchschnittlichen Transformationsraten bei $BeSO_4$- Stimulation in Abhängigkeit von der Konzentration

TABELLE 5: KULTURERGEBNISSE der Exponentengruppe I

Oberer Teil: absolute Zahl der Lymphozyten mit der Eigenschaft „transformiert"
unterer Teil. Transformationsrate (in %) aller 4 Objektglasausstriche pro Stimulationsmodus

Probanden-Nr n = 6	10 µg Be SO_4				1 µg Be SO_4				0,1 µg Be SO_4				0,01 µg Be SO_4				1 200 PHA				0,9 % NaCl			
	REAGENZGLAS - NUMMER																							
	1		7		2		8		3		9		4		10		5		11		6		12	
1	8	5	4	9	1	0	1	3	5	12	6	14	9	12	22	12	71	68	89	50	2	3	9	11
3	1	5	3	2	3	1	7	3	9	8	15	12	12	12	13	18	37	36	23	46	7	8	10	14
4	9	5	3	3	3	5	8	2	11	10	14	12	15	17	13	26	28	26	36	30	11	18	6	17
10	2	1	6	2	2	3	3	3	7	5	5	1	11	10	8	1	55	65	37	39	3	0	2	3
11	2	3	0	1	8	9	4	20	21	21	27	14	14	16	12	13	25	33	24	28	5	7	13	14
18	2	3	1	3	12	5	6	7	7	4	6	6	17	24	11	12	23	24	25	21	2	5	7	8

1	6,5	1,25	9,25	13,75	67,25	6,25
3	2,75	3,5	11	13,75	35,5	9,75
4	5	4,5	11,75	17,75	30	13
10	2,75	2,75	4,5	7,5	49	2
11	1,5	10,25	20,75	13,75	27,5	9,75
18	2,25	7,5	5,75	16	23,25	5,5
$\bar{X}$	3,46	4,96	10,5	13,75	38,75	7,70
±S	1,894	3,329	5,779	3,468	16,560	3,896

TABELLE 6: KULTURERGEBNISSE der Exponentengruppe II

Oberer Teil: absolute Zahl der Lymphozyten mit der Eigenschaft „transformiert"
unterer Teil: Transformationsrate (in %) aller 4 Objektglasausstriche pro Stimulationsmotus

Probanden Nr	10 µg $BeSO_4$				1 µg $BeSO_4$				0,1 µg $BeSO_4$				0,01 µg $BeSO_4$				1:200 PHA				0,9 % NaCl			
	REAGENZGLAS - NUMMER																							
n = 8	1		7		2		8		3		9		4		10		5		11		6		12	
2 ♀	1	1	1	3	3	1	3	4	7	5	8	9	1	7	5	4	41	20	22	43	10	10	8	1
5	0	1	1	0	6	8	6	3	16	11	27	18	13	8	11	12	21	17	11	19	14	13	7	8
6	1	2	4	1	4	2	3	7	6	8	14	10	5	10	9	9	19	26	29	27	10	10	11	7
7 ♀	0	2	3	4	5	7	3	4	12	10	11	7	7	6	12	6	38	33	38	40	12	7	9	8
8 ♀	4	6	3	4	9	5	3	6	0	6	13	10	8	5	10	14	28	40	52	55	18	9	0	9
9	8	8	5	5	14	5	4	0	4	8	10	7	12	10	0	2	31	38	46	42	11	7	9	6
12 ♀	10	10	1	1	2	2	1	2	6	10	1	8	6	5	11	12	26	30	51	32	11	2	5	16
20	3	1	3	5	4	8	2	4	11	8	4	4	2	2	6	8	43	34	55	54	7	9	4	2

2 ♀	1,5	2,75	7,25	4,25	31,5	7,25
5	0,5	5,75	18	11	17	10,5
6	2	4	9,5	8,25	25,25	9,5
7 ♀	2,25	4,25	10	7,75	37,25	9
8 ♀	4,25	5,75	7,25	9,25	43,75	9
9	6,5	5,75	7,25	6	39,25	8,25
12 ♀	5,5	1,75	6,25	8,5	34,75	8,5
20	3	4,5	6,75	4,5	46,5	5,5
$\bar{X}$	3,19	4,13	9,03	7,44	34,41	8,44
± S	2,066	1,481	3,856	2,352	9,714	1,516

TABELLE 7: KULTURERGEBNISSE der Exponentengruppe III

Oberer Teil: absolute Zahl der Lymphozyten mit der Eigenschaft „transformiert"
unterer Teil: Transformationsrate (in %) aller 4 Objektglasausstriche pro Stimulationsmodus

Proband Nr	10 µg Be SO_4				1 µg Be SO_4				0,1 µg Be SO_4				0,01 µg Be SO_4				1 200 PHA				0,9 % NaCl			
	REAGENZGLAS – NUMMER																							
n = 4	1		7		2		8		3		9		4		10		5		11		6		12	
23	5	8	3	4	3	2	2	3	1	4	8	4	2	0	6	2	52	65	48	50	8	4	4	6
24	3	1	3	3	5	2	1	1	2	2	6	4	1	2	2	3	30	34	35	45	6	3	4	6
26 ♀	2	1	1	1	4	6	3	7	1	3	1	4	8	5	4	6	50	47	42	43	4	3	4	1
27	0	1	2	3	2	0	4	3	8	4	5	4	5	4	2	5	61	67	48	56	10	9	3	7

23	5,0	2,5	4,25	2,5	53,75	5,5
24	2,5	2,25	3,5	2,0	36	4,75
26 ♀	1,25	5	2,25	5,75	45,5	3,0
27	1,5	2,25	5,25	4,0	58	7,25
$\bar{X}$	2,56	3,0	3,81	3,56	48,31	5,13
± S	1,712	1,339	1,264	1,688	9,711	1,762

TABELLE 8: KULTURERGEBNISSE NICHTEXPONIERTER PERSONEN (Nullkollektiv)

Oberer Teil: absolute Zahl der Lymphozyten mit der Eigenschaft „transformiert"
unterer Teil: Transformationsrate (in %) aller 4 Objektglasausstriche pro Stimulationsmodus

Probanden-Nr	10 µg $BeSO_4$				1 µg $BeSO_4$				0,1 µg $BeSO_4$				0,01 µg $BeSO_4$				1:200 PHA				0,9 % NaCl			
	REAGENZGLAS - NUMMER																							
n = 9	1		7		2		8		3		9		4		10		5		11		6		12	
13 ♀	4	5	7	2	2	4	5	1	2	5	2	2	5	5	1	2	28	36	27	21	1	2	3	1
14	4	13	3	4	1	1	2	2	2	11	1	1	3	5	2	1	20	28	21	23	5	1	4	2
15	3	6	0	1	6	7	4	6	4	11	8	7	6	2	9	5	45	37	51	49	3	3	0	0
16	2	4	2	2	9	1	2	3	9	2	4	9	3	1	11	12	27	25	30	27	4	3	10	4
17	5	5	3	7	6	3	4	10	8	6	9	9	4	3	5	1	18	20	24	21	5	2	6	7
19	1	2	3	3	3	1	3	5	3	5	11	17	12	17	8	10	71	53	38	61	4	7	11	9
21 ♀	3	3	3	1	3	6	1	3	8	1	9	9	5	5	8	2	50	52	52	42	2	10	6	6
22 ♀	2	1	1	2	4	2	1	2	4	3	3	1	3	1	4	5	68	56	37	52	1	1	3	6
25	4	4	3	1	3	9	4	4	6	9	8	9	3	4	6	10	44	61	53	59	12	8	5	6

13 ♀	4,5	3,0	2,75	3,25	28	1,75
14	6	1,5	3,75	2,75	23	3
15	2,5	5,75	7,5	5,5	45,5	1,5
16	2,5	3,75	6	6,75	27,25	5,25
17	5	5,75	8	3,25	20,75	5
19	2,25	3	10,5	11,75	55,75	7,75
21 ♀	2,5	3,25	6,75	5	49	6
22 ♀	1,5	2,25	2,75	3,25	53,25	2,75
25	3	5	8	5,75	54,25	7,75
$\bar{X}$	3,31	3,69	6,22	5,25	39,67	4,53
± S	1,499	1,509	2,665	2,809	14,563	2,399

Tabelle / Graphik 9

Proband Nr.: 1		Gef. stufe: I		Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 200	0,9 %
6,5	1,25	9,25	13,75	69,5	6,25

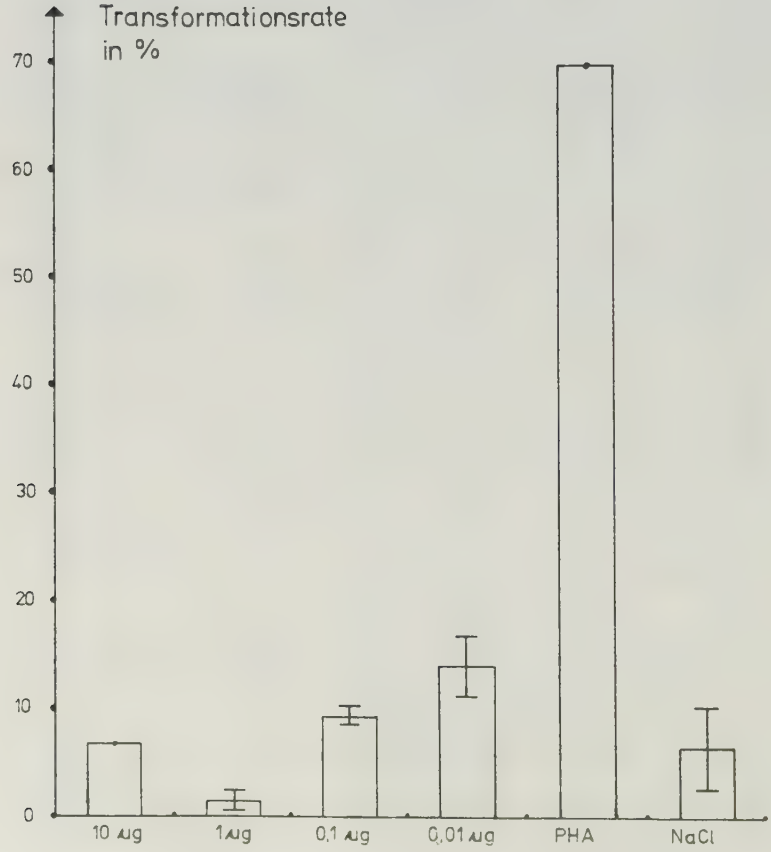


Tabelle / Graphik 10

Proband Nr.: 3		Gef. stufe: I		Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 : 200	0,9 %
2,75	3,5	11	13,75	35,5	9,75

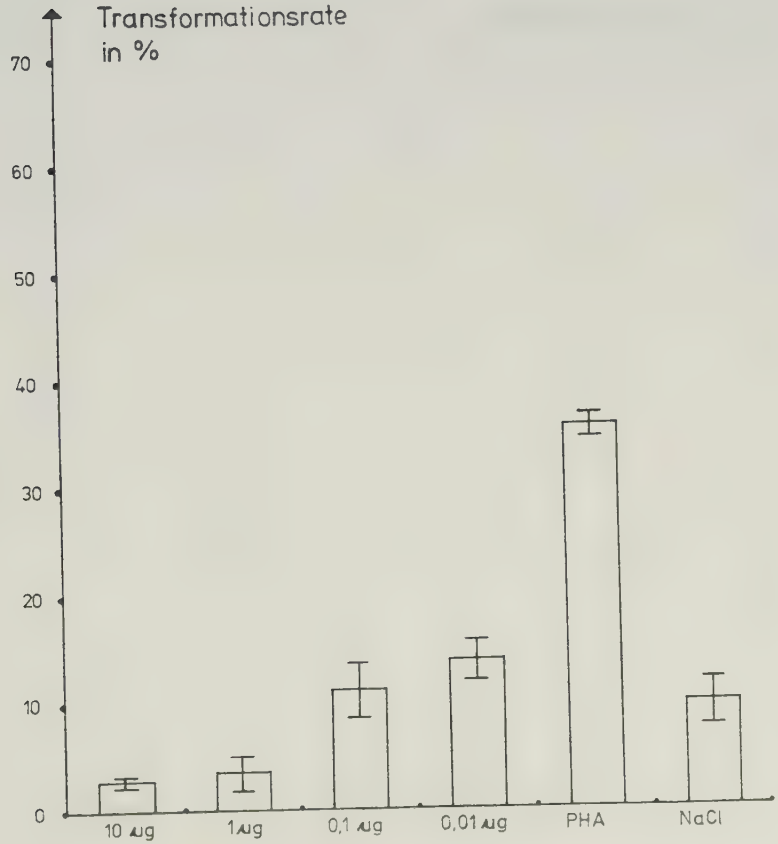


Tabelle / Graphik 11

Proband Nr.: 4		Gef. stufe: I		Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 : 200	0,9 %
5,0	4,5	11,75	17,75	30	13

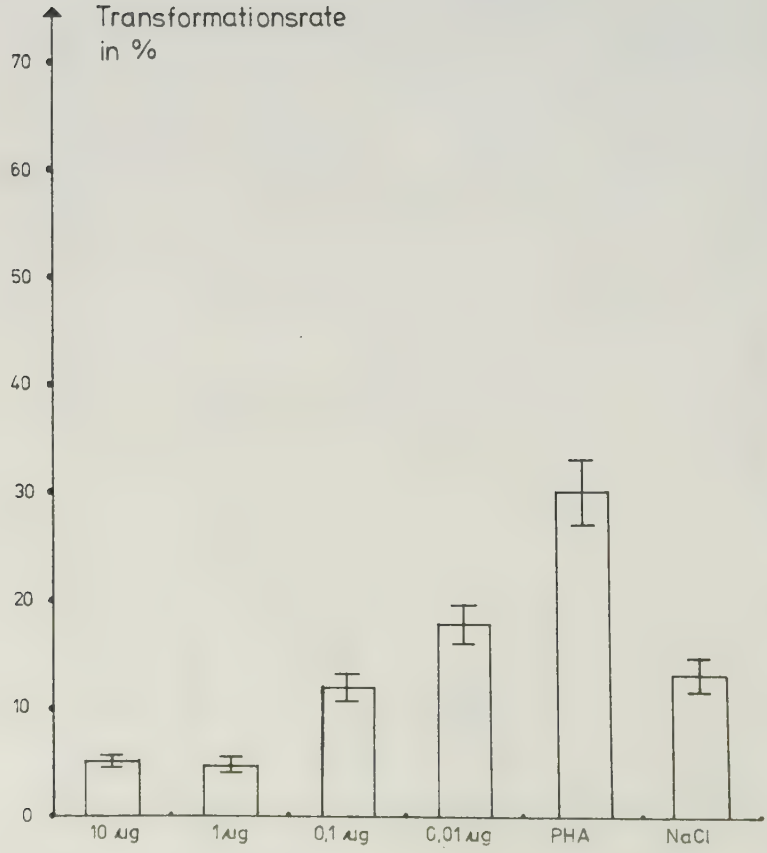


Tabelle / Graphik 12

Proband Nr.: 10		Gef stufe: I		Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 . 200	0,9 %
2,75	2,75	4,5	7,5	49	2

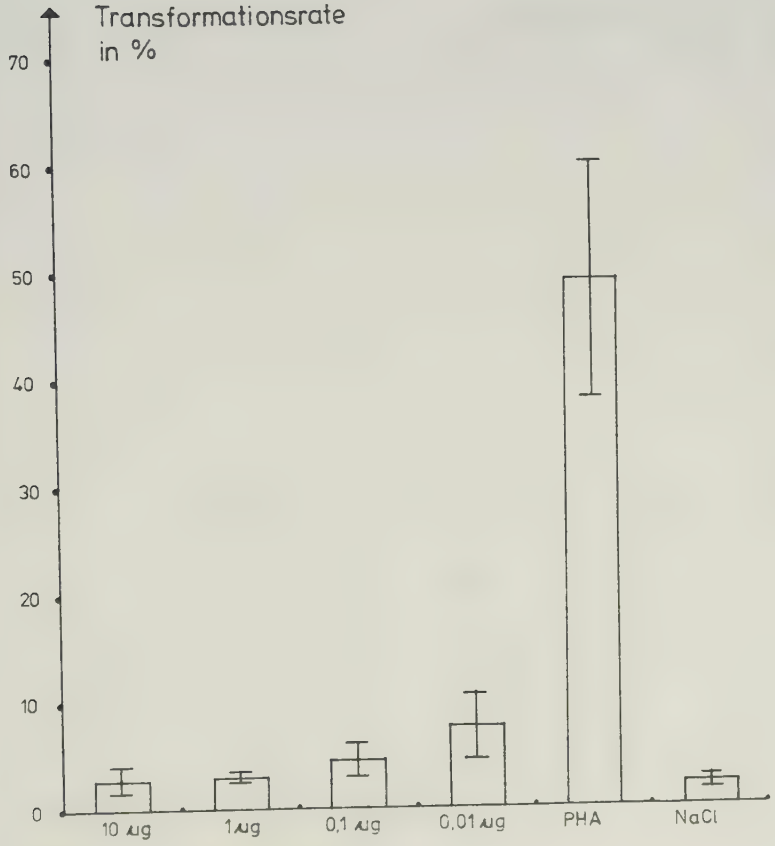


Tabelle / Graphik 13

Proband Nr.: 11		Gef. stufe: I		Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 . 200	0,9 %
1,5	10,25	20,75	13,75	27,5	9,75

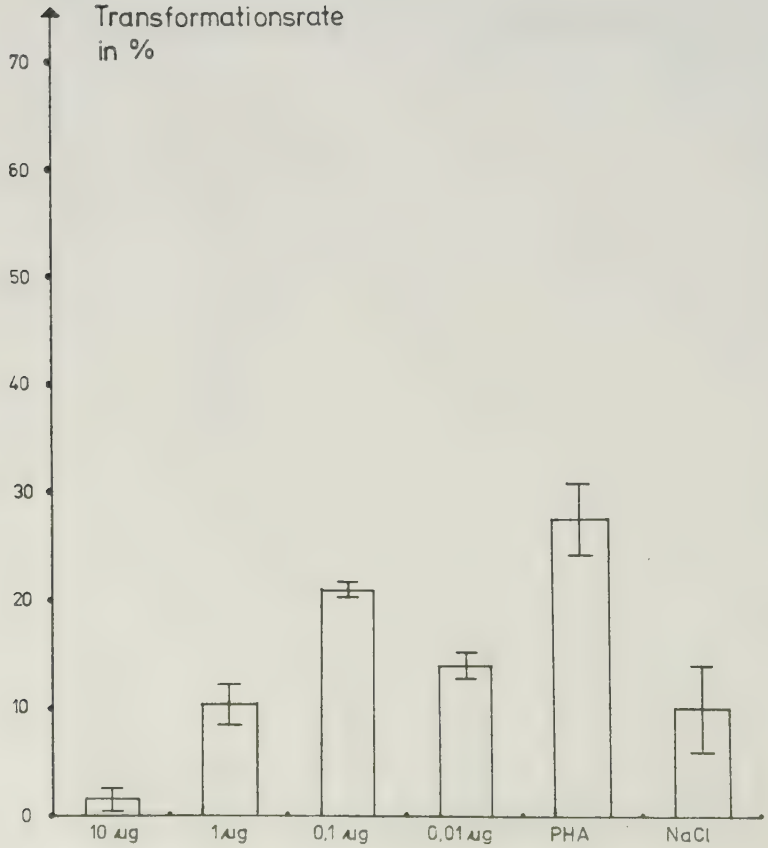


Tabelle / Graphik 14

Proband Nr.: 18	Gef stufe: I			Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 : 200	0,9 %
2,25	7,5	5,75	16	23,25	5,5

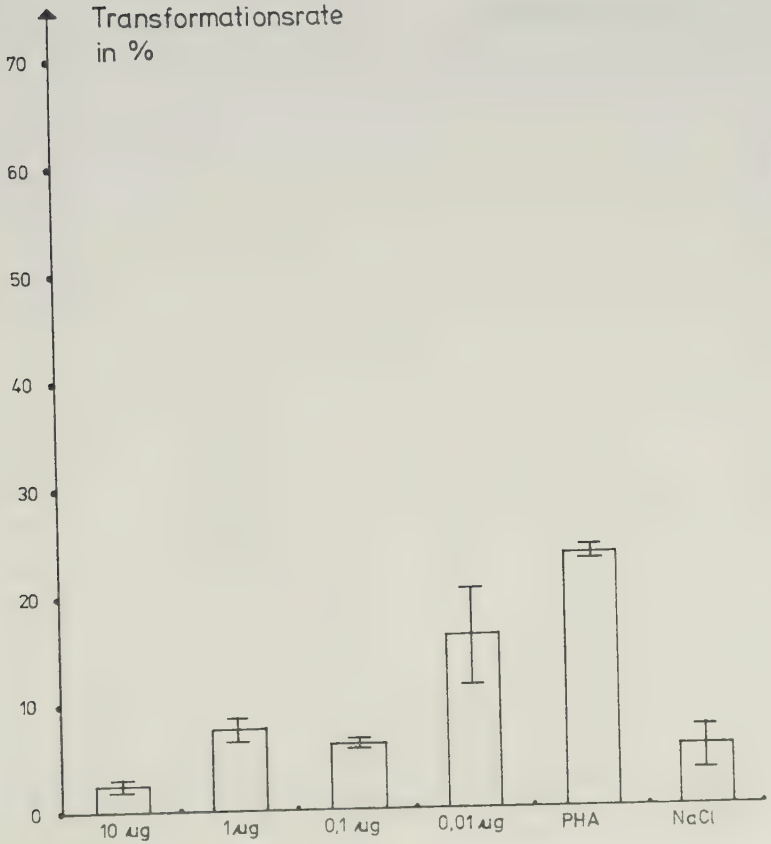


Tabelle / Graphik 15

Proband Nr.: 2		Gef. stufe: II		Geschl.: W	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 : 200	0,9 %
1,5	2,75	7,25	4,25	31,5	7,25

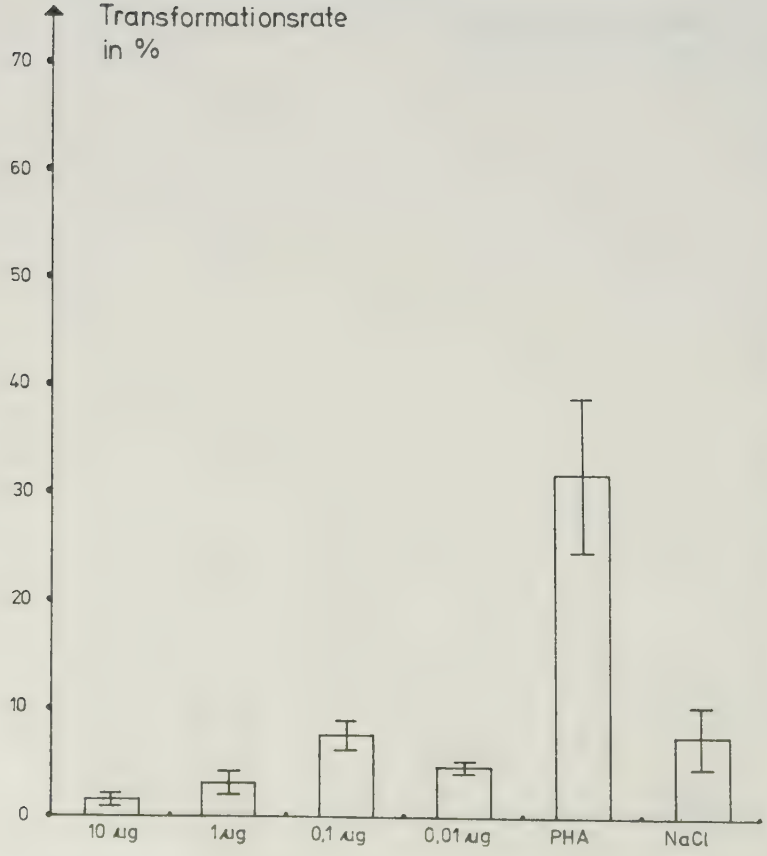


Tabelle / Graphik 16

Proband Nr.: 5		Gef. stufe: II		Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 . 200	0,9 %
0,5	5,75	18	11	17	10,5

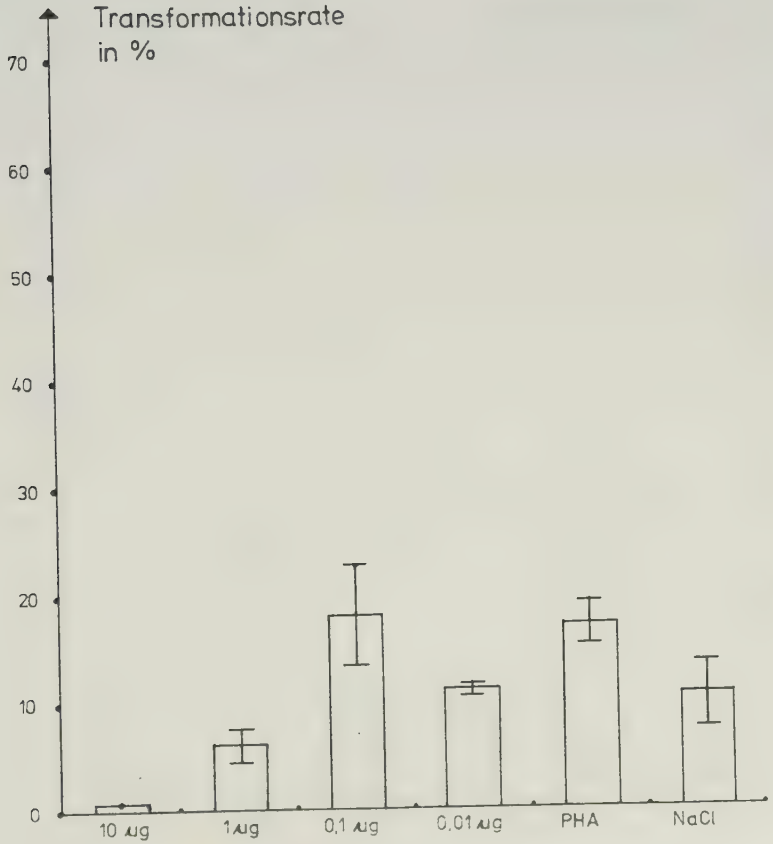


Tabelle / Graphik 17

Proband Nr.: 6		Gef. stufe: II		Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 : 200	0,9 %
2	4	9,5	8,25	25,25	9,5

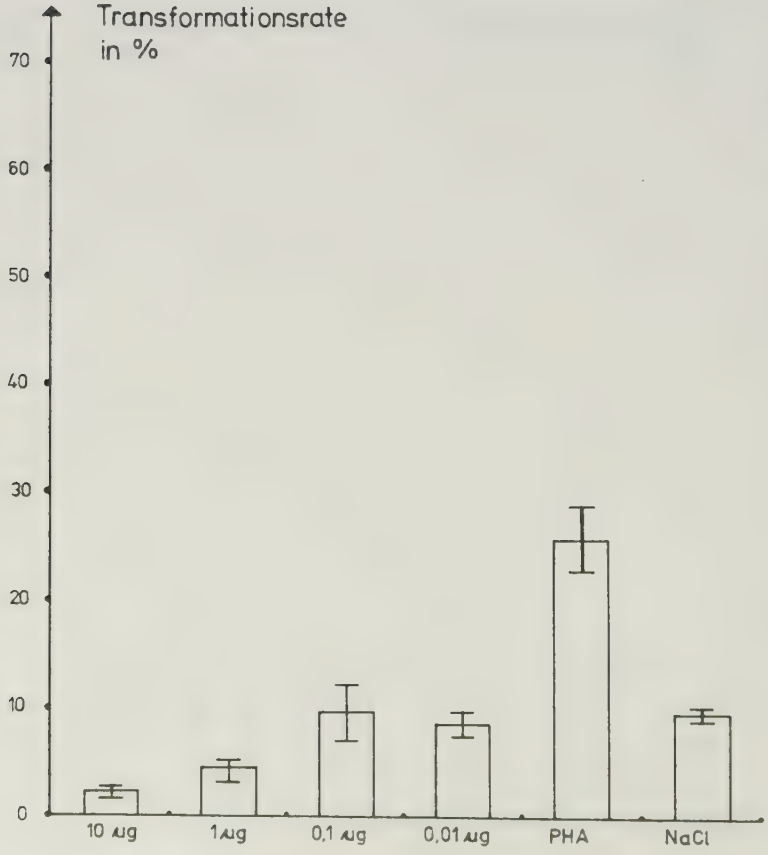


Tabelle / Graphik 18

Proband Nr.: 7		Gef. stufe: II		Geschl.: W	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 . 200	0,9 %
2,25	4,75	10	7,75	37,25	9

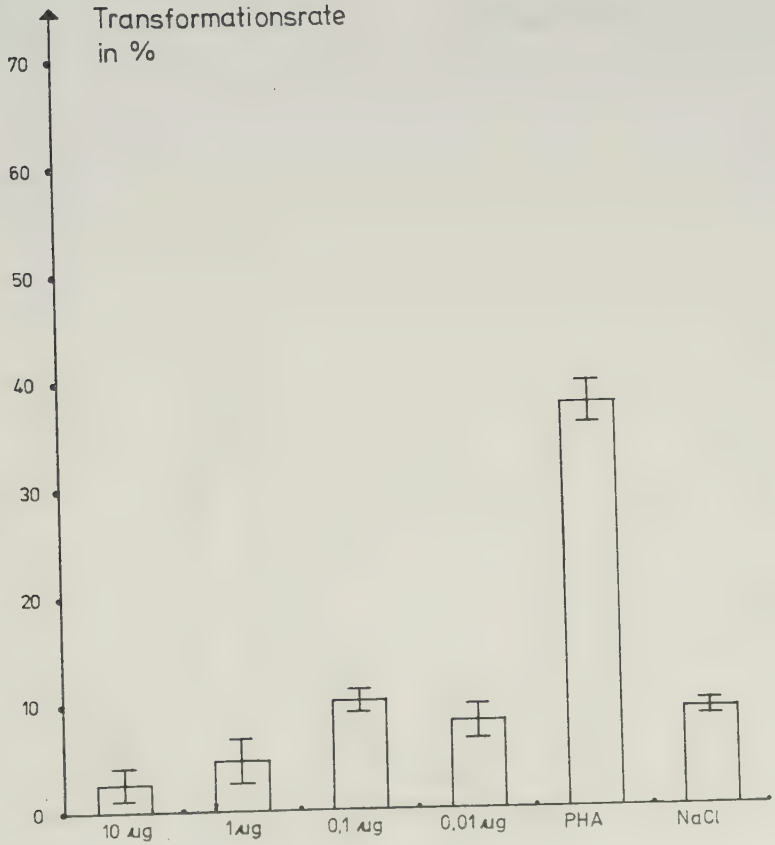


Tabelle / Graphik 19

Proband Nr.: 8		Gef stufe: II		Geschl.: W	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmed.um				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 : 200	0,9 %
4,25	5,75	7,25	9,25	43,75	9

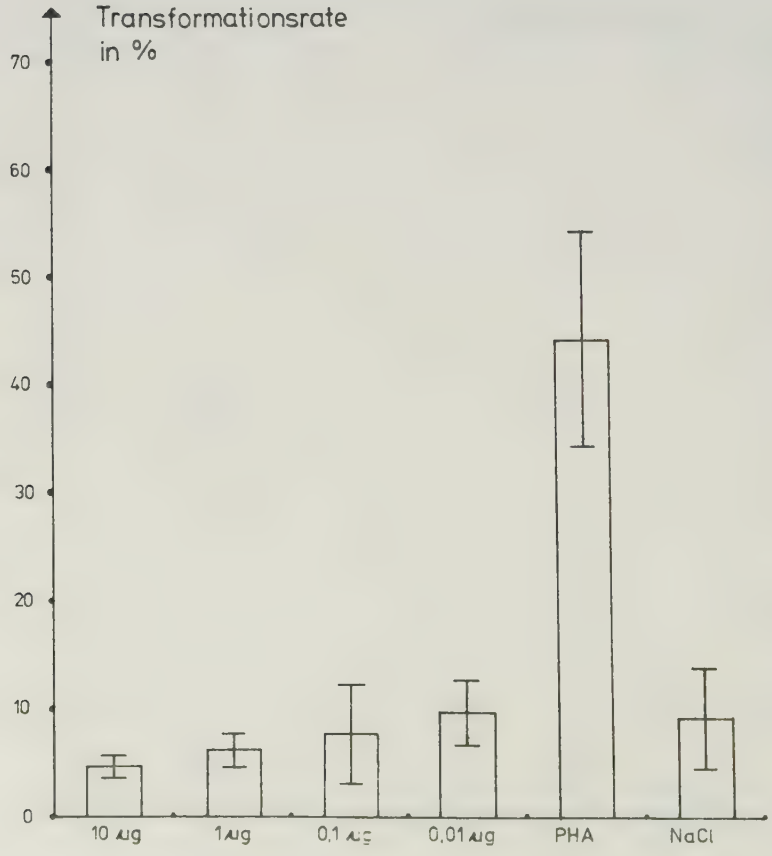


Tabelle / Graphik 20

Proband Nr.: 9		Gef. stufe: II		Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 . 200	0,9 %
6,5	5,75	7,25	6	39,25	8,25

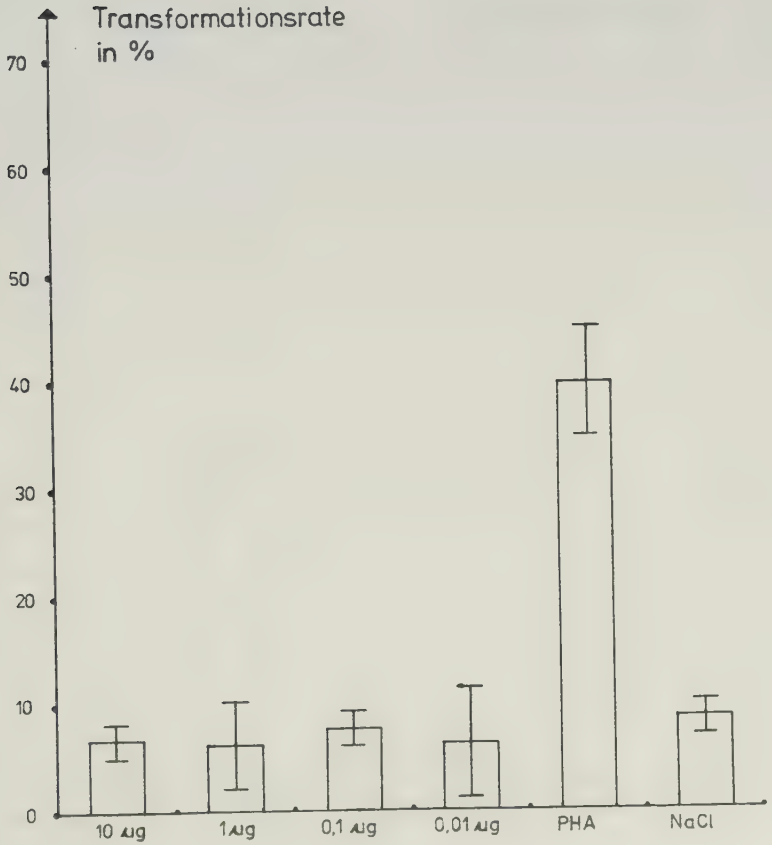


Tabelle / Graphik 21

Proband Nr.: 12		Gef. stufe: II		Geschl.: W	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 : 200	0,9 %
5,5	1,75	6,25	8,5	34,75	8,5

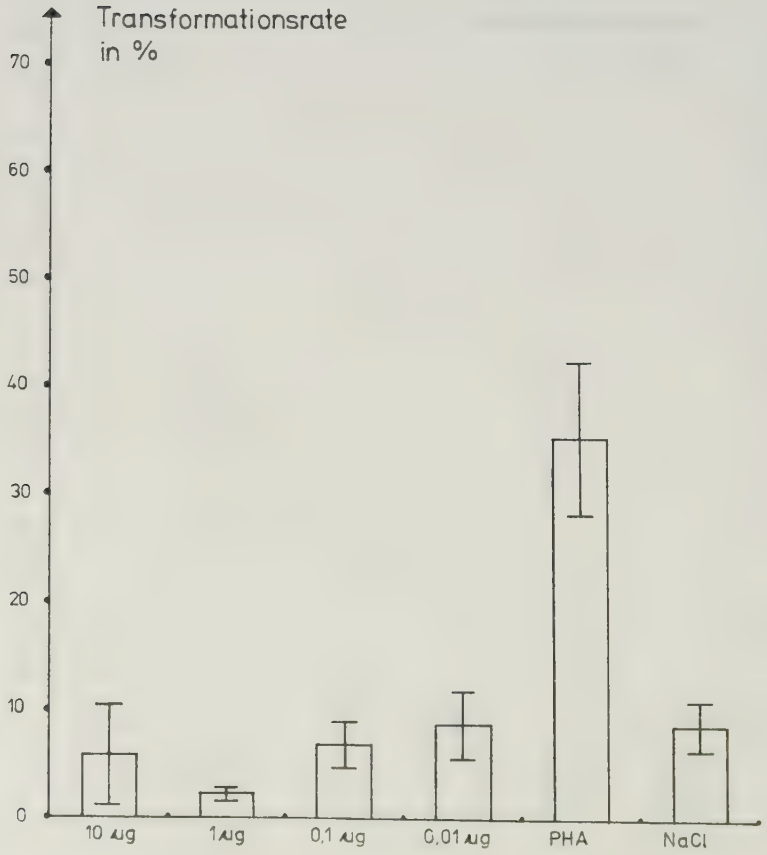


Tabelle / Graphik 22

Proband Nr.: 20		Gef. stufe: II		Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 200	0,9 %
3	4,5	6,75	4,5	46,5	5,5

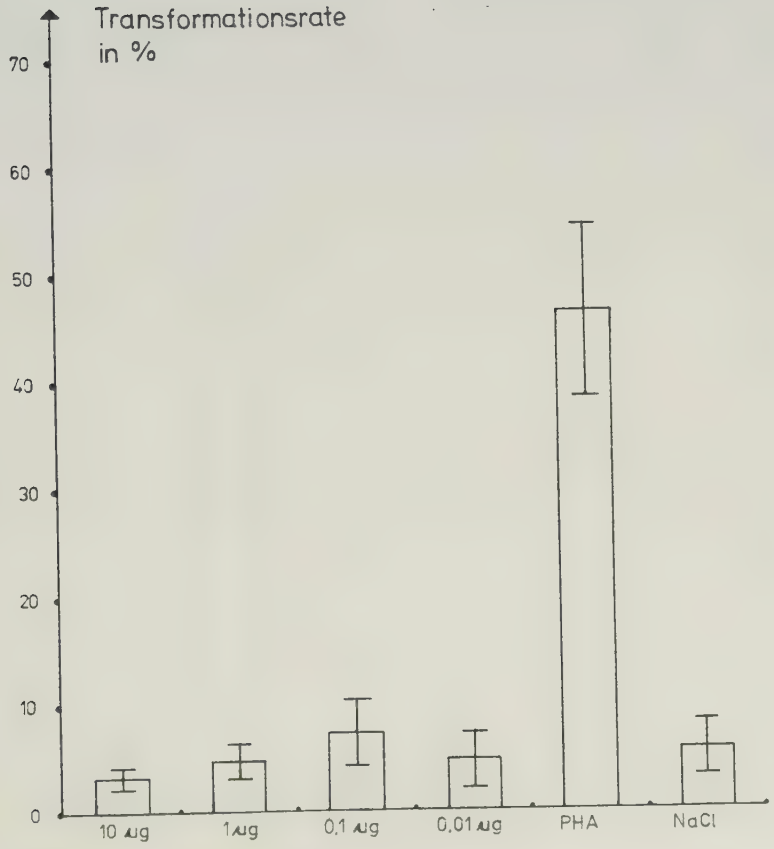


Tabelle / Graphik 23

Proband Nr.: 23		Gef. stufe: III		Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 200	0,9 %
5	2,5	4,25	2,5	53,75	5,5

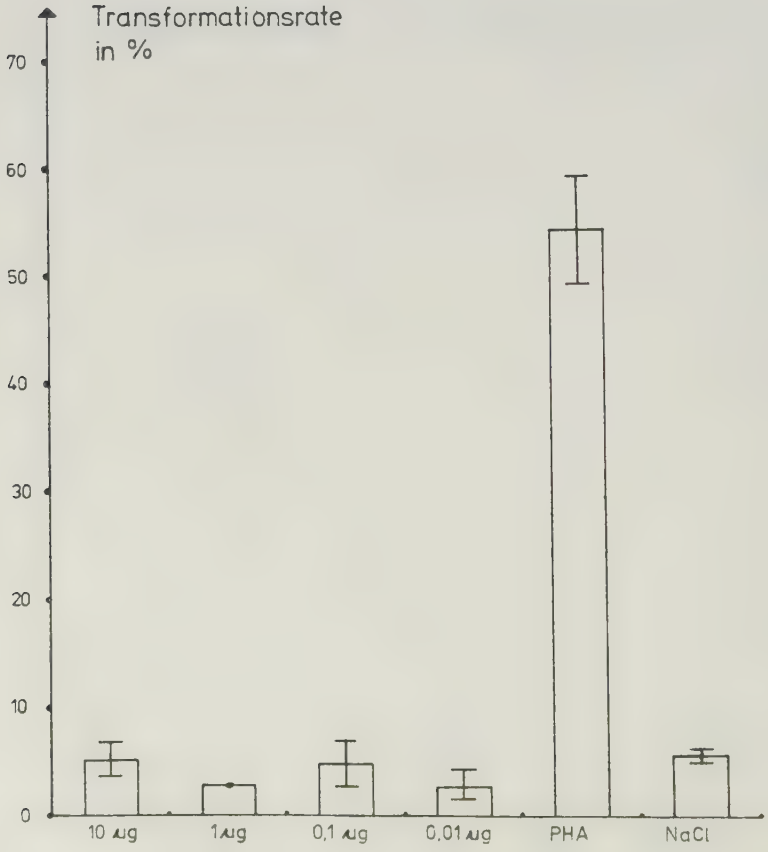


Tabelle / Graphik 24

Proband Nr.: 24		Gef. stufe: III		Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 200	0,9 %
2,5	2,25	3,5	2	36	4,75

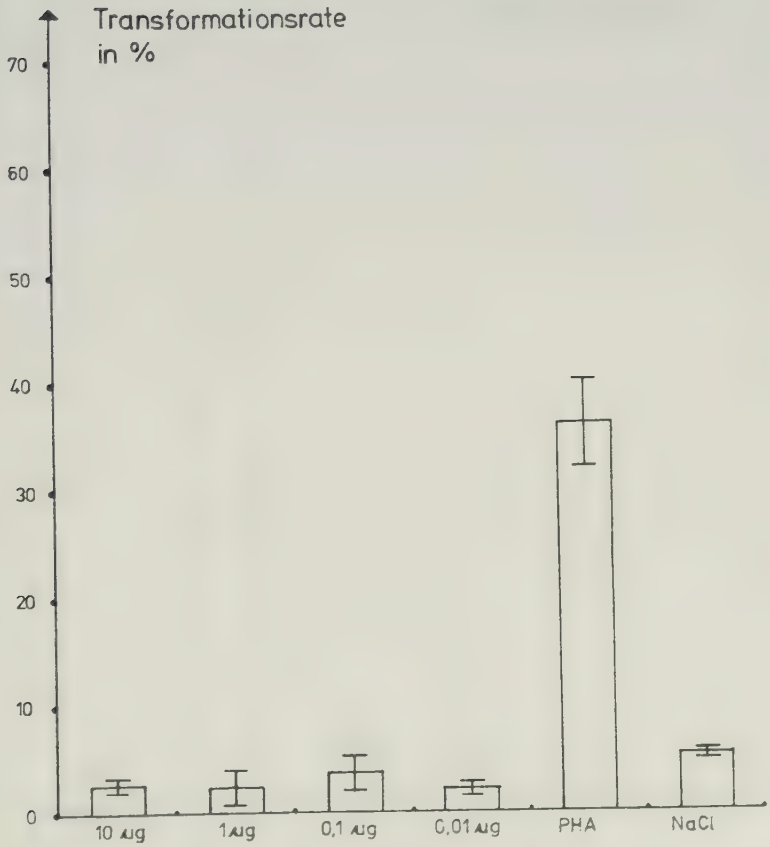


Tabelle / Graphik 25

Proband Nr. 26		Gef. stufe III		Geschl.: W	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 . 200	0,9 %
1,25	5	2,25	5,75	45,5	3

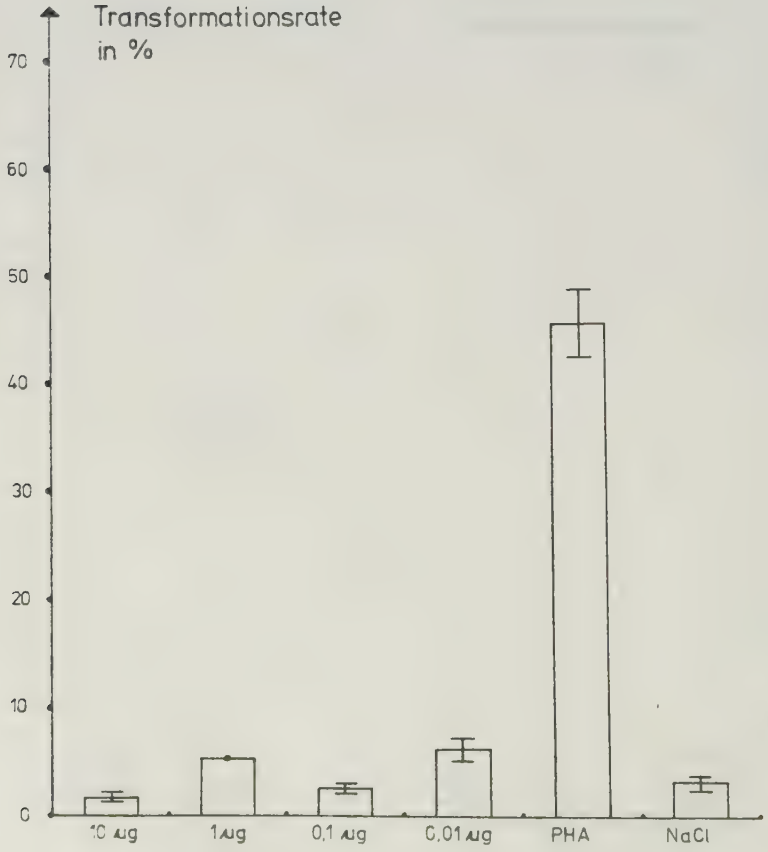


Tabelle / Graphik 26

Proband Nr.: 27		Gef. stufe: III		Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 . 200	0,9 %
1,5	2,25	5,25	4	58	7,25

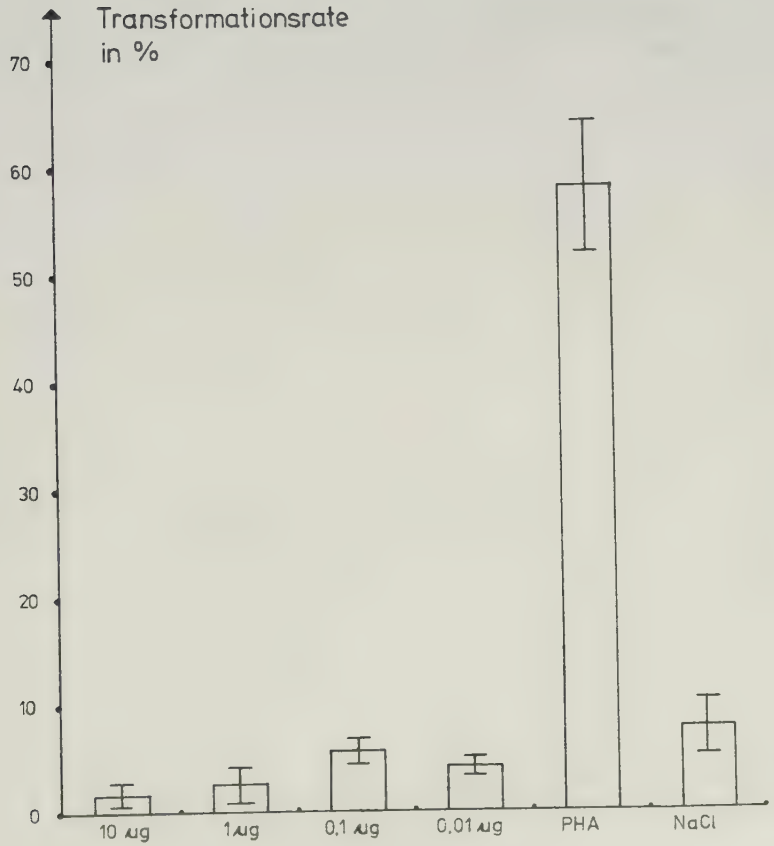


Tabelle / Graphik 27

Proband Nr.: 13		Gef. stufe: Null		Geschl.: W	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 : 200	0,9 %
4,5	3	2,75	3,25	28	1,75

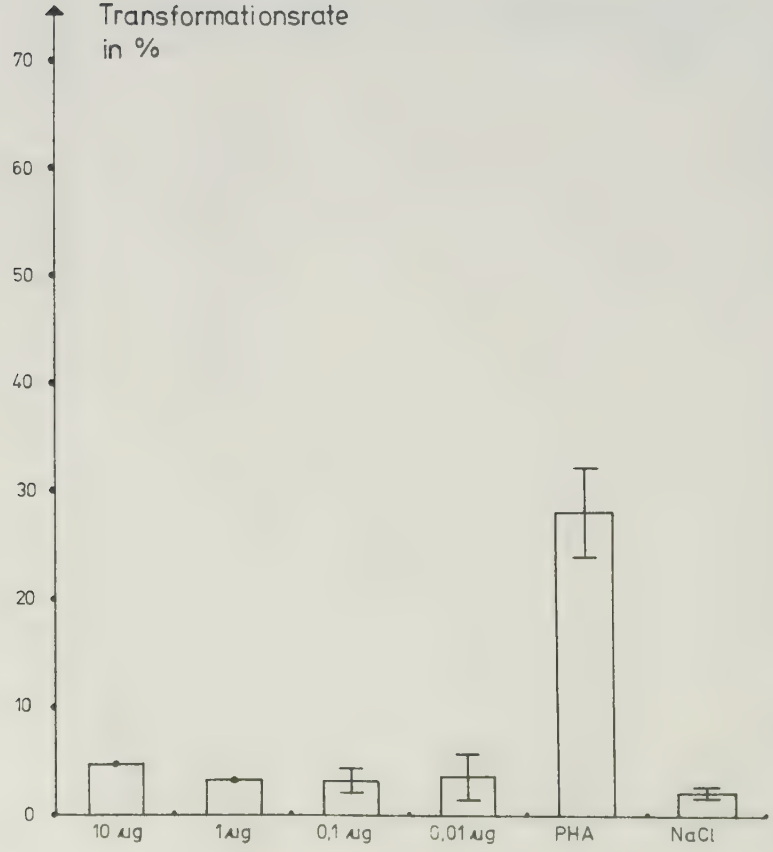


Tabelle / Graphik 28

Proband Nr.: 14	Gef. stufe: Null			Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 . 200	0,9 %
6	1,5	3,75	2,75	23	3

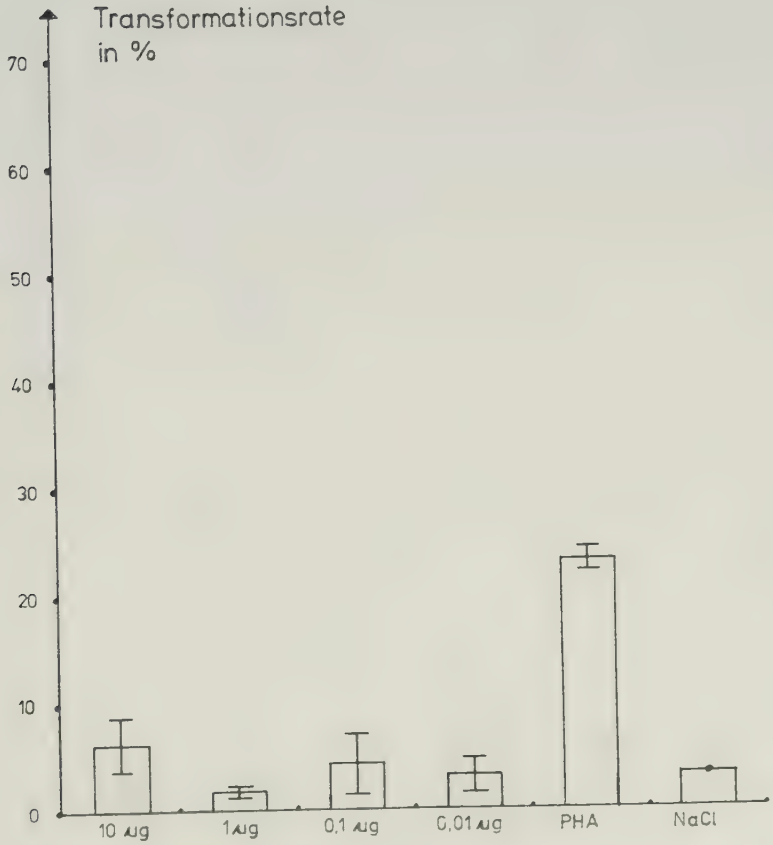


Tabelle / Graphik 29

Proband Nr.: 15		Gef. stufe: Null		Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 : 200	0,9 %
2,5	5,75	7,5	5,5	45,5	1,5

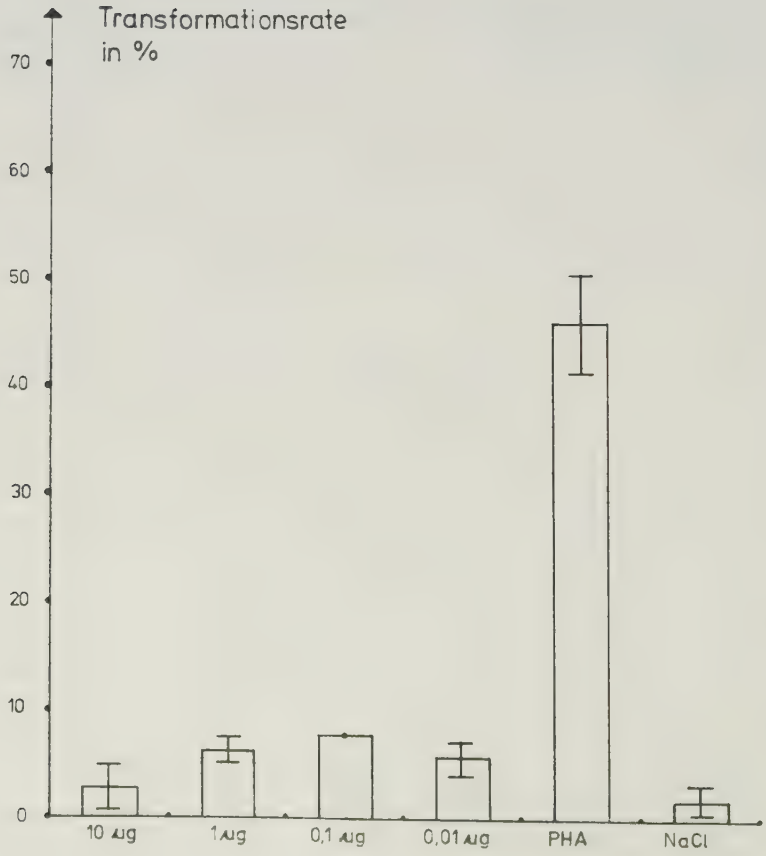


Tabelle / Graphik 30

Proband Nr.: 16		Gef stufe: Null		Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 : 200	0,9 %
2,5	3,75	6	6,75	27,25	5,25

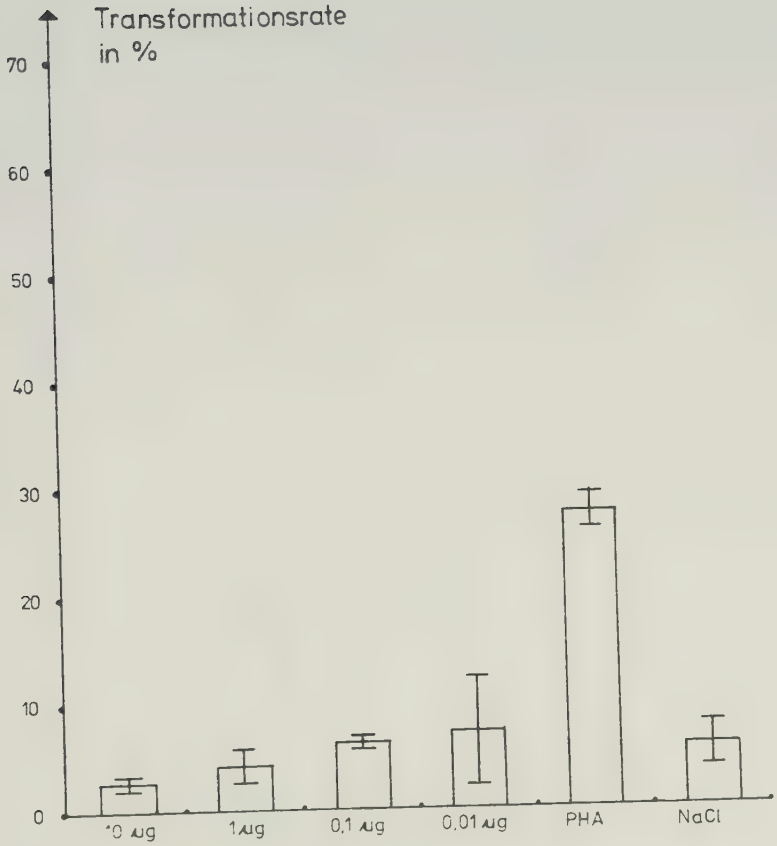


Tabelle / Graphik 31

Proband Nr.: 17		Gef. stufe: Null		Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 : 200	0,9 %
5	4,75	8	3,25	20,75	5

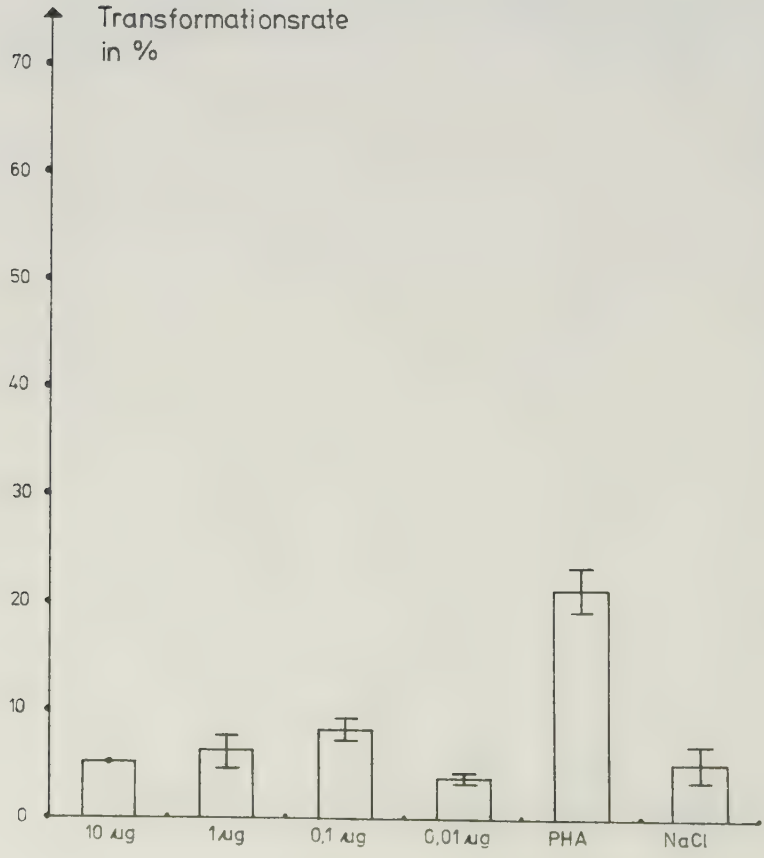


Tabelle / Graphik 32

Proband Nr.: 19		Gef. stufe: Null		Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 : 200	0,9 %
2,25	3	10,5	11,75	55,75	7,75

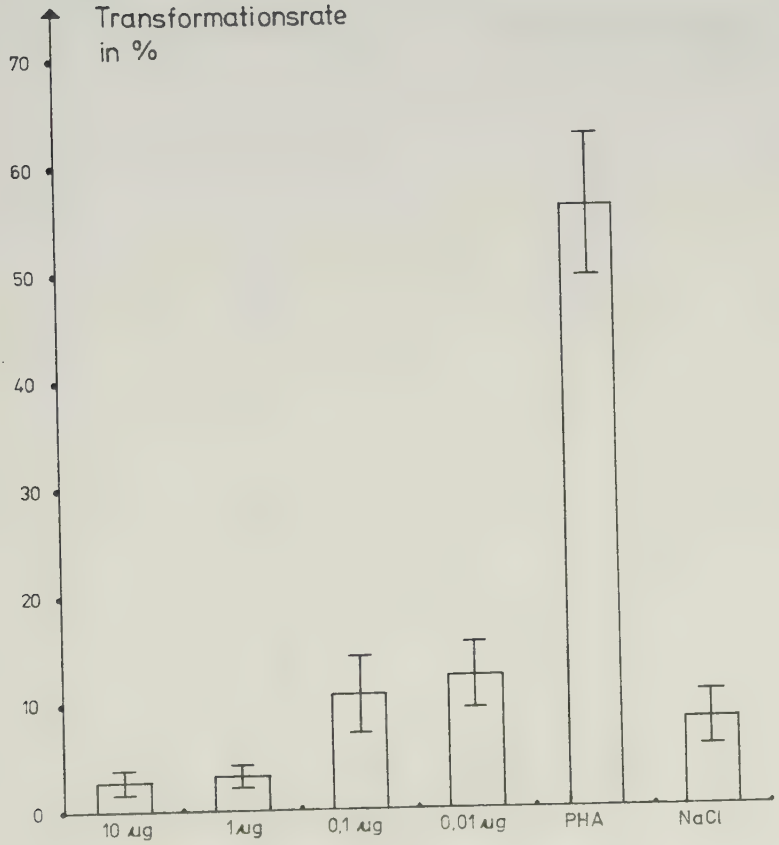


Tabelle / Graphik 33

Proband Nr.: 21	Gef. stufe: Null			Geschl.: W	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 . 200	0,9 %
2,5	3,25	6,75	5	49	6

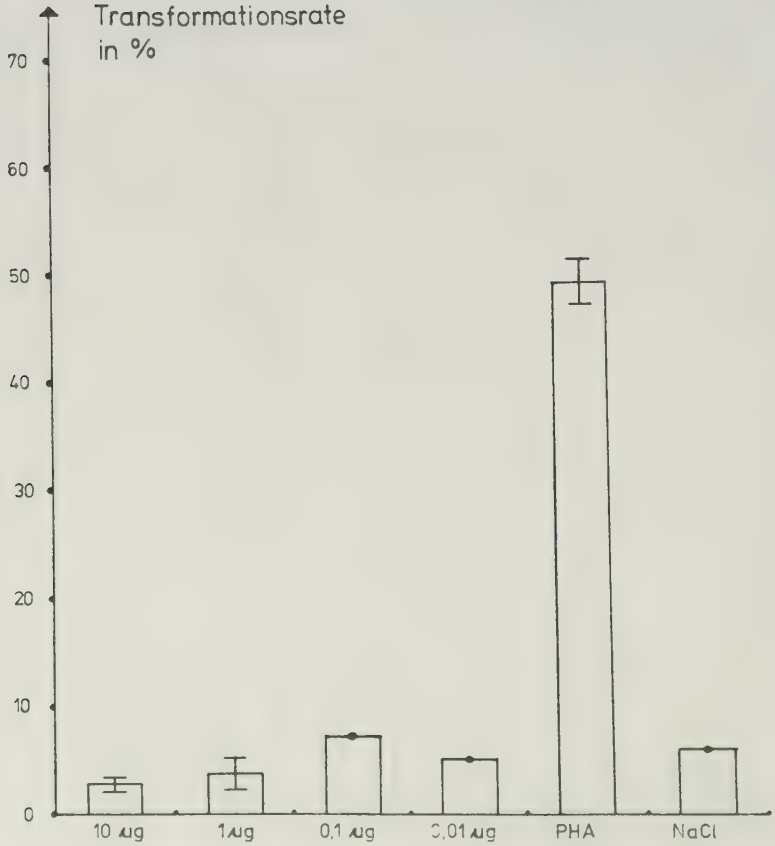


Tabelle / Graphik 34

Proband Nr. 22	Gef stufe: Null			Geschl.: W	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 200	0,9 %
1,5	2,25	2,75	3,25	53,25	2,75

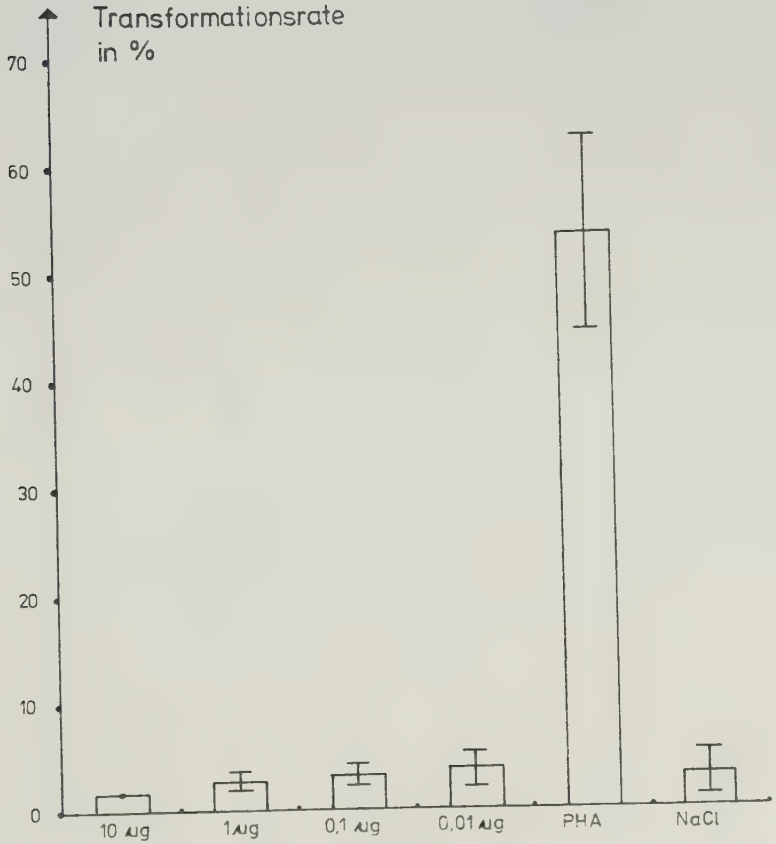


Tabelle / Graphik 35

Proband Nr.: 25	Gef. stufe Null			Geschl.: M	
Transformationsraten in %					
$BeSO_4$ in 5 ml Kulturmedium				PHA	NaCl
10 µg	1 µg	0,1 µg	0,01 µg	1 200	0,9 %
3	5	8	5,75	54,25	7,75

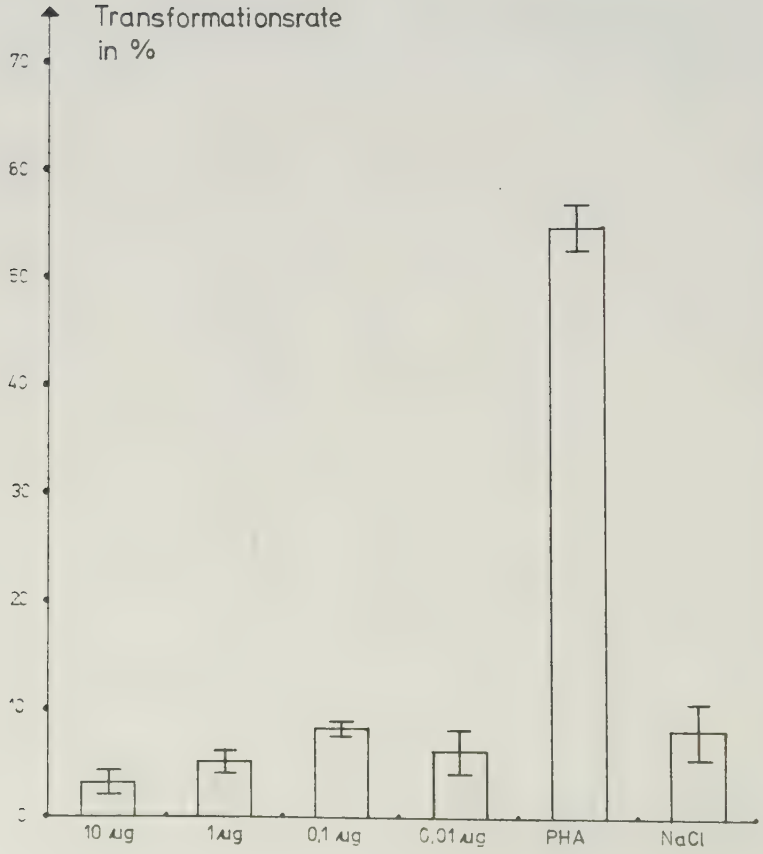
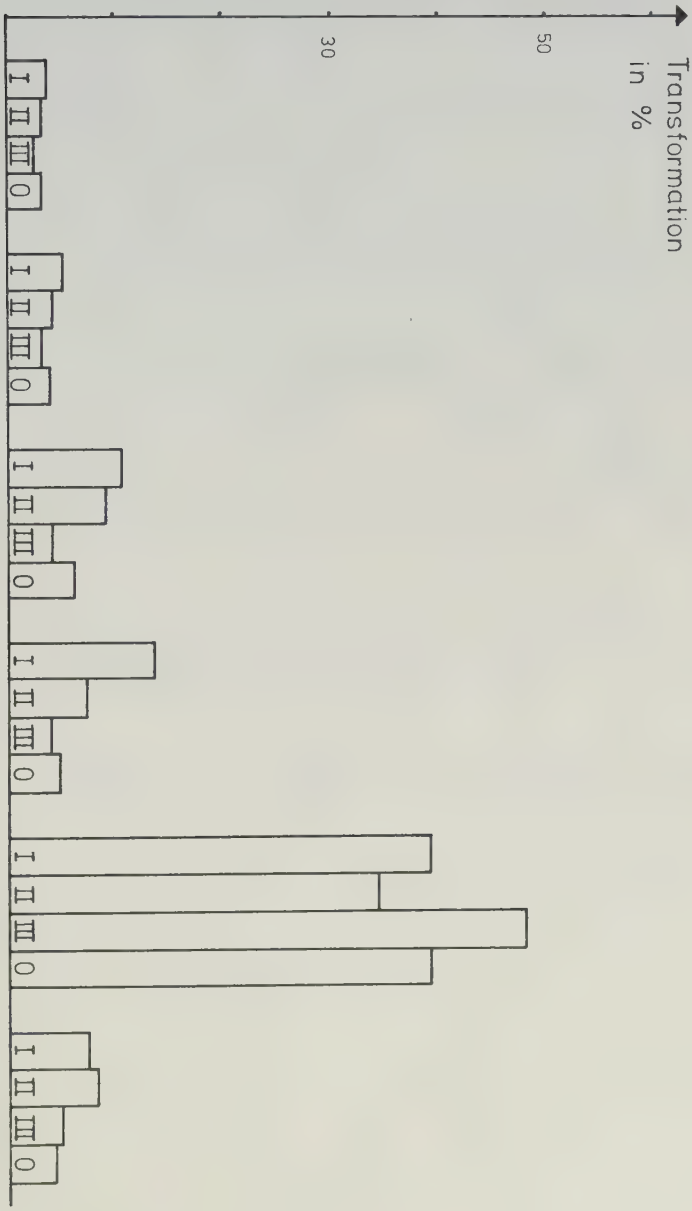


Abb. 12 Durchschnittliche Transformationsraten der einzelnen Gefährdungsstufen und des Nullkollektivs



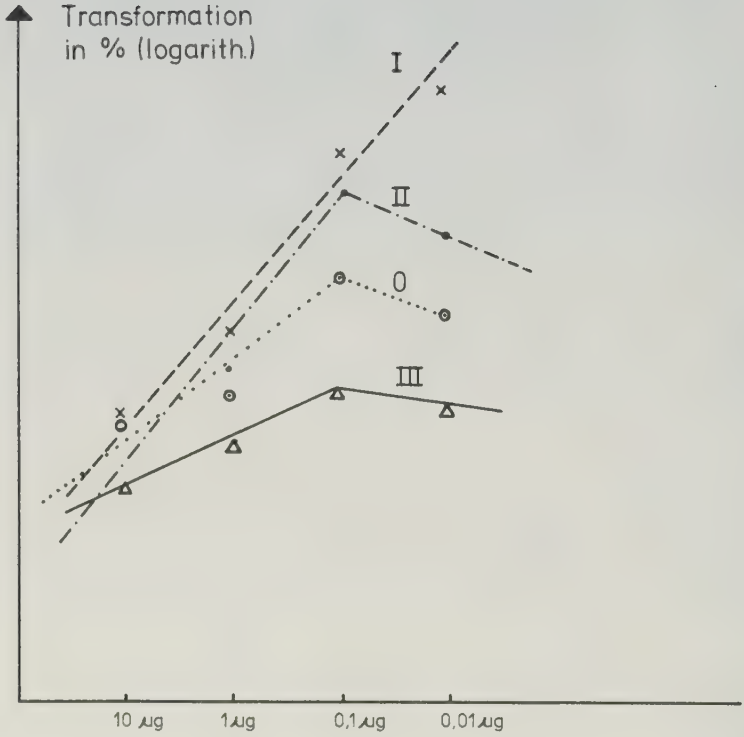


Abb. 13: Durchschnittliche Transformationsraten der Einzelgruppen in doppeltlogarithmischem Maßstab

Zusammenstellung der experimentellen Ergebnisse :

1. Die mittlere Transformationsrate bei den vier $BeSO_4$-Konzentrationen nimmt bei den Probanden der Gefährdungsstufe I die höchsten Werte an.

2. Die 10%-Marke der mittleren Transformationsraten wird bei den $BeSO_4$-Konzentrationen 0,1 µg/5 ml Kulturmedium und 0,01 µg/ 5 ml Kulturmedium von den Probanden der Gefährdungsstufe I erreicht.

3. Die mittlere Transformationsrate in Kulturen mit $BeSO_4$ steigt an mit abnehmender Antigenkonzentration.

4. Die mittleren Transformationsraten durchlaufen bei den Probanden der Gruppen II, III und "Null" ihr Maximum bei einer Antigenkonzentration von 0,1 µg $BeSO_4$ mit absteigender Tendenz bei 0,01 µg $BeSO_4$.

5. Probanden der Gruppe I erreichen bei 0,01 µg $BeSO_4$ die höchste mittlere Transformationsrate und unterscheiden sich hierin deutlich von den anderen Gruppen (siehe Punkt 4).

6. Die positive Kontrollkultur zeigt Transformationsraten, die deutlich über jenen in den $BeSO_4$ - Kulturen liegen.

3.10. Statistische Auswertung

Bei der statistischen Auswertung der gefundenen Ergebnisse erfolgte eine Beschränkung auf die Berylliumkulturen, die mit 0,01 µg/5 ml Kulturmedium versetzt waren, da hier die deutlichsten Unterschiede bei den Transformationsraten der Einzelgruppen zu verzeichnen waren.

Zur statistischen Auswertung wurde das Logit-Modell

$$\log \frac{\%\ \text{transformiert}}{\%\ \text{nichttransformiert}} = (\text{Stoff})_i + (\text{Sex})_j + (\text{Gruppe})_k + e_{ijk}$$

$$(\ i = 1,2;\ j = 1,2;\ k = 1,\ldots,4)$$

angepaßt /28,64/.

Die Durchführung der Rechnungen wurde mit dem GLIM-Paket (NAG, Oxford, England) durchgeführt.
Eine vorherige Analyse ergab keinen glas- und replikationsspezifischen Effekt.

Mit Hilfe dieses Modells findet man in den der statistischen Analyse unterzogenen Kulturen signifikante Unterschiede, die auf die Faktoren Stoff (=Beryllium als antigenes Stimulans), Geschlecht und Gruppenzugehörigkeit zurückgeführt werden können.
So lassen sich auf dem 5%-Niveau folgende Aussagen machen :

1. Es besteht kein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe III und dem Nullkollektiv
2. Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den zusammengefassten Gruppen III + 0 und II.
3. Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen III + 0 und I
4. Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen II und I.

Zusätzlich konnte ein signifikanter Geschlechtseffekt auf die Transformationsraten festgestellt werden : Frauen neigen weniger zu Transformationen als Männer.
Insofern müssen bei der Beurteilung des Transformationsverhalten in dieser Kultur (mit 0,01 µg $BeSO_4$) die Signifikanzen einschränkend bewertet werden, da wahrscheinlich eine Überlagerung von Geschlechts- und Stoffeffekten zum Tragen kommt.
Dies gilt besonders für die Gefährdungsstufe I, da hier keine Frauen eingestuft waren, wodurch möglicherweise die vergleichsweise hohe mittlere Transformationsrate in dieser Gruppe mitverursacht wurde.

IV DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die statistische Überprüfung der experimentell gefundenen Transformationsraten in den Kulturen mit 0,01 µg $BeSO_4$ ergaben keinen signifikanten Unterschied zwischen dem Nullkollektiv und der Gefährdungsstufe III, so daß diese Gruppen zusammengefasst werden konnten. Signifikante Unterschiede fanden sich zwischen den Transformationsraten der Gruppen III + 0 und I, III + 0 und II,sowie I und II. Diese Unterschiede sind allerdings durch die Überlagerung mit einem signifikanten Geschlechtseffekt auf die Transformationsrate nur bedingt auf einen alleinigen Stoffeffekt zurückzuführen.
Aufgrund der Struktur des vorliegenden Datenmaterials konnte der Geschlechtseffekt nicht mehr abgetrennt werden.

Für die arbeitsmedizinische Bewertung muß jedoch vorrangig eine Aussage zum individuellen Risiko einer Einzelperson gemacht werden. HEITMANN /50/ beurteilt Lymphocytentransformationen in den spezifischen Kulturen mit 10% bis 40% als "positiv", während SIMON /97/ die Kulturergebnisse bei einer blastischen Umwandlung über die doppelte Transformationsrate der Kontrollkulturen hinaus mit "positiv" einstuft.
Bei Anwendung der Bewertungskriterien von HEITMANN müssten 5 Probanden der Gefährdungsstufe I (Proband Nr. 1,3,4,11,18) und 2 Probanden der Gefährdungsstufe II (Proband Nr. 5 und 7) als berylliumsensibilisiert bezeichnet werden, während bei der Bewertung nach SIMON 3 Probanden der Gefährdungsstufe I (Proband Nr. 1,10,18) als sensibilisiert eingestuft werden können, wobei die Probanden Nr. 1 und 18 in beiden Fällen betroffen wären.
Es zeigen sich demnach erhebliche Unsicherheiten bei der Bewertung von Ergebnissen des Transformationstestes, was u.a. auch durch die hohe Streuung von Ergebnissen biologischer Testmethoden bedingt ist, wie in vorliegender Arbeit festgestellt werden konnte.

Als weitere Unsicherheitsfaktoren bei der experimentellen Abwicklung und Bewertung des Lymphocytentransformationstestes sind zu nennen :

1. Bei Anwendung eines Heparinzusatzes zu den Kulturen werden möglicherweise Berylliumionen der immunologischen Reaktion entzogen, da Heparin die Fähigkeit zur Komplexbildung besitzt.

2. Durch Verunreinigungen der Reagenzglaswand durch metallische Ionen kann eine unkontrollierbare Lymphoblastenbildung entstehen.

3. Durch spezifische Wirkung entstandene Lymphoblasten besitzen die Fähigkeit, sich zu normalen Lymphocyten zurückzubilden /97/. Da durch die lichtmikroskopische Auswertung des LTT eine statische, von der aktuellen Morphologie abhängige Größe gemessen wird, kann die Kinetik der Zellkultur ungenügend zum Ausdruck kommen und eine Einschränkung zur Aussage über die Größe tatsächlich abgelaufener Transformationen bedingen.

4. Das Maximum der DNS-Synthese ereignet sich am 5.-6. Kulturtag /12/. Da bei Anwendung der Mikrovollblutmethode in vorliegender Arbeit durch den Erythrocytenstoffwechsel eine progrediente Acidose in den Kulturgläschen entsteht, was mit Schädigung des immunologischen Reaktionsablaufes verbunden gewesen wäre, wurde die Inkubation am 5. Tag abgebrochen und die Zellen ausgewertet. Zu diesem Zeitpunkt hätte noch eine vermehrte Blastenbildung einsetzen können.

5. Der Lymphocytentransformationstest darf nur bei eindeutigem Nachweis einer Sensibilisierung als diagnostisches Kriterium herangezogen werden. Negative Stimulationsergebnisse erlauben es nicht, eine Sensibilisierung auszuschließen /49,66/.

6. Die Auswertung des LTT mit Lichtmikroskopie erfordert Zeit und Routine bei schlecht reproduzierbaren Ergebnissen, was für medizinische Screening-Methoden von erheblichem Nachteil ist.

Beim Vergleich der gefundenen Ergebnisse der Expositionsgruppe I mit jenen der anderen Gruppen und der Kontrollgruppe stellt man ein unterschiedliches Verhalten der Transformationsraten bei spezifischer Stimulation fest. Insbesondere erscheint bedeutsam, daß die mittlere Transformationsrate bei den Gruppen II, III und "Null" ein Maximum erreicht bei einer $BeSO_4$-Konzentration von 0,1 µg um bei 0,01 µg einen kleineren Wert anzunehmen, während die Expositionsgruppe I ein mittleres Transformationsmaximum bei 0,01 µg erreicht. Diese Feststellung könnte Ausdruck einer beginnenden Sensibilisierung sein, die möglicherweise bei einer noch niedrigeren Allergenkonzentration nachzuweisen ist.
Unterstützt wird diese Vermutung durch die höheren Transformationsraten in dieser Gruppe. Allerdings konnten diese hohen Transformationsraten statistisch nicht allein auf einen Berylliumeffekt zurückgeführt werden, obwohl ein signifikanter Unterschied zum Nullkollektiv nachgewiesen werden konnte. Dieser dürfte jedoch zusätzlich durch die bereits erwähnte geschlechtsspezifische Beeinflussung mitbedingt sein.

Für weitere Untersuchungen mit dem LTT wäre wichtig, die Blastenbildung nach Identifikation der T- und B-Lymphocyten zu studieren (z.B. Rosettentest), um eine bessere Aussage zum Grad der Beteiligung von Lymphocyten-Subpopulationen am immunologischen Geschehen machen zu können.
Bei Berücksichtigung aller Kriterien und aus der Erfahrung dieser Arbeit muß gesagt werden, daß der LTT eine Bereicherung der Berylliosediagnostik darstellen kann. Die Auswertung mit Lichtmikroskopie sollte jedoch speziellen morphologischen Fragestellungen vorbehalten bleiben.

Wie auch von CIANCIARA /14/ festgestellt, ist die alleinige Durchführung eines LTT bei der Diagnose einer chronischen Berylliose nicht aussagekräftig genug, insbesondere wenn keine weiteren Hinweise für eine Erkrankung vorliegen.
Vielmehr bedarf es weiterhin des gründlichen klinischen Check-up und zusätzlicher Untersuchungen, wie die Bestimmung der Immunglobuline und den Nachweis von Autoantikörpern.

V ZUSAMMENFASSUNG

Im theoretischen Teil der Arbeit wurden die bedeutsamen Ergebnisse der bisherigen Erforschung von Berylliumwirkungen abgehandelt und die Frage der Carcinogenese durch Beryllium und seine Verbindungen diskutiert.

Im experimentellen Teil der Arbeit wurde eine Untersuchung durchgeführt, die die spezifische Stimulierbarkeit von Lymphocyten eines berylliumexponierten Probandenkollektivs mit jener eines Nullkollektivs vergleichen sollte.

Als Untersuchungsmethode wurde der Lymphocytentransformationstest mit lichtmikroskopischer Auswertung gewählt. In Abhängigkeit vom individuellen Ausmaß der Gefährdung durch Berylliumverbindungen erfolgte eine Einteilung in drei Expositionsgruppen und eine Kontrollgruope (Nullkollektiv).

Beim Vergleich der Ergebnisse der Einzelgruppen konnte festgestellt werden, daß die Gruppen II, III und "Null" die höchste durchschnittliche Transformationsrate bei spezifischer Stimulation durch 0,1 µg $BeSO_4$ erfahren, um bei Stimulation durch 0,01 µg $BeSO_4$ einen niedrigeren Wert anzunehmen. Die Gruppe I mit stärkster Gefährdung nimmt dagegen bei Stimulation durch 0,01 µg $BeSO_4$ eine maximale durchschnittliche Transformationsrate an.

Bei der statistischen Überprüfung konnte gezeigt werden, daß sich die Transformationsraten zwischen den Gruppen III und 0 nicht unterscheiden lassen und somit als gemeinsame Null-Gruppe "III +0" zusammengefasst werden konnten. Ein signifikanter Unterschied in den Transformationsraten findet sich zwischen der meistgefährdeten Gruppe I und "III + 0", zwischen "III + 0" und II sowie zwischen I und II. Diese Unterschiede konnten allerdings wegen eines zusätzlich festgestellten geschlechtsspezifischen Effektes nicht ausschließlich auf den Berylliumeffekt zurückgeführt werden.

Diese Feststellungen könnten als beginnende Sensibilisierung der Probanden der Expositionsgruppe I angesehen werden, wenngleich kein Einzelproband allein von einem Ergebnis eines Lymphocytentransformationstestes als "lymphocytenreaktiv" auf Berylliumverbindungen im Sinne einer Allergie vom verzögerten Typ bezeichnet werden darf.

VI LITERATURVERZEICHNIS

1. ALDINGER,F.: Beryllium - ein Leichtmetall mit besonderen Eigenschaften und seine Handhabung. "Haus der Technik - Vortragsveröffentlichungen". Vulkan-Verlag, Essen 1977

2. ALDINGER,F., PETZOW,G.: Berylliumwerkstoffe mit extremen Eigenschaften. Radex-Rundschau 3/4 (1972) 275-283

3. ALEKSEEVA,O.G., VASILEVA,E.V., ORLOVA,A.A.: Abolition of natural tolerance and the influence of the chemical allergen beryllium on autoimmune processes. Bull.Wld.Hlth.Org. 51 (1974) 51-58

4. ARAKI,M., OKADA,S.: Experimental studies on beryllium - Induced malignant tumors in rabbits. GANN 45 (1954) 449-451

5. BANDTEL,K.J.: Der Lymphocytentransformationstest und seine Bedeutung für die Früherkennung der chronischen Berylliose. Untersuchung des Immunstatus von Meerschweinchen nach Langzeitexposition mit $BeSO_4$ im MAK-Bereich. Inaugural-Dissertation 1975, Tübingen

6. BARNES,J.M., DENZ,F.A.: Beryllium bone sarcomata in rabbits. Brit.J.Canc. 4 (1950) 212-222

7. BARNES,J.M.: Experimental production of malignant tumors by beryllium. Lancet 1 (1950) 463

8. BMA - Bekanntmachungen vom 1.9.1977 — III b 4 - 3745.81 - 2615/77

9. BERGER,N.A., SKINNER,A.M.: Characterization of lymphocyte transformation induced by zinc ions. J.Cell.Biol. 61 (1974) 45-55

10. BERKOVITZ,M., ISRAEL,B.: Changes in the lung in fluorine beryllium poisoning. Klin.Med. 18 (1940), Moscow, 117-122

11. BOLL,J., KÖTTER,R.: Die Phytohämagglutininkultur als Test zur Verlaufskontrolle lymphoproliferativer Erkrankungen. Dtsch.Med.Wschr. 99 (1974) 678-684

12. BRANDIS,H.: Einführung in die Immunologie UTB 138, Gustav-Fischer-Verlag, 1975

13. CHRISTEN,H.R.: Grundlagen der allgemeinen und anorganischen Chemie. 2.Auflage 1969, Frankfurt/M.

14. CIANCIARA,M.J., VOLKOVA,A.P., AIZINA,N., ALEKSEEVA,O.G.: A study of humoral and cellular responsiveness in a population exposed to beryllium. Int.Arch.Occup.Environ.Hlth. 45 (1980) 87-94

15. CIANCIARA,M.; MATUSZCAK,D.: Behaviour of various biochemical indices of liver efficiency and of selected blood serum electrolytes in workers exposed to beryllium. Med.Pr. 28 (1977) 193

16. CLARY,J.J., STOKINGER,H.E.: The mechanisme of delayed biologic response following Be- exposure. J.Occup.Med. 15 (1973) 254-259

17. COTTON,F.A., WILKINSON,G.: Anorganische Chemie
3.Aufl., Verlag Chemie Weinheim 1974

18. CRALLEY,L.J.: Industrial Hygiene Control
US- Public Health Service Publication
No. 2173 (1972) 41-45

19. CRALLEY,L.J.: Air Sampling and Analysis
US - Public Health Service Publication
No. 2173 (1972) 37-39

20. CROSSMON,G.C., VANDEMARK,W.C.: Microscopic observations correlating toxicity of beryllium oxide with crystal structure.
Arch.Ind.Hyg.Occup.Med. 9 (1954)
481-487

21. CROWLEY,J.F., HAMILTON,J.G., SCOTT,K.G.: Investigation in rats with ^{7}Be
J.Biol.Chem. 177 (1949) 177-183

22. CURTIS,G.H.: The diagnosis of beryllium disease, with special reference to the patch test.
A.M.A.Arch.Indust.Hlth. 19 (1950)
150-153

23. CURTIS,G.H.: Cutaneous hypersensitivity due to beryllium. A study of thirteen cases.
Arch.Dermatol.Syphilol. 64 (1951)
470-482

24. DE NARDI,J.M.: Long-term experience with beryllium disease.
A.M.A.Arch.Ind.Health 19 (1959) 110-116

25. DE NARDI,J.M.: Chronic pulmonary interstitial granulomatosis preliminary report on two patients treated with ACTH. Arch.Indust.Hyg.Occup.Med. 3 (1951) 543

26. DE NARDI,J.M., VAN ORDSTRAND;H.S., CARMODY,M.G.: Acute dermatitis and pneumonitis in beryllium workers. A review of 406 cases in an 8-year-period with follow-up on recoveries. Ohio St.Med.J. 45 (1949) 567-575

27. DHEODAR,S.D., BARNA,B.; VAN ORDSTRAND,H.S.: A study of the immunologic aspects of chronic berylliosis. CHEST 63 (1973) 309-313

28. DIETZ,K.: Pers. Mitteilung Inst.f. Medizinische Biometrie, Universität Tübingen, 1981

29. DOBOZY,A., HUNJADI,A.J., SIMON,N.: Zellmigrationshemmung und klinische Bedeutung ihrer Untersuchung. Berufsdermatosen 21 (1973) 137-188

30. DUDLEY,H.R.: The pathologic changes of chronic beryllium disease. A.M.A.Arch.Indust.Hlth. 19 (1959) 184-187

31. DUTRA,F.R., LARGENT, E.J.: Osteogenic sarcoma after inhalation of beryllium oxide. A.M.A.Arch.Pathol. 51 (1951) 473-479

32. ERMAKOVA,N.C.: Assessment of the T-Lymphocyte population in persons exposed to beryllium compounds. Gig Tr Prof Zabol 10 (1978) 52

33. FIRKET,H.: Mise en evidence histochemique du Beryllium dans des cellules cultivees in vitro. C.R. Soc.Biol. 147 (1953) 167

34. FOLESKY,H.: Bemerkungen zum Berylliumgranulom. Berufsdermatosen 15 (1967) 93-103

35. FREIMAN,D.C., HARDY,H.L.: Beryllium disease. Human Pathol. 1 (1970) 25-44

36. GARDNER,L.U., HESLINGTON,H.F.: Osteosarcoma from intravenous beryllium compounds in rabbits. Fed.Proc. 5 (1946) 221

37. GELMAN,J.: Poisoning by vapors of beryllium oxyfluoride. J.Ind.Hyg.Toxicol. 18 (1936) 371-379

38. GELMAN,J.: Beryllium (Glucinium-): Occupation and Health. Int.Lab.Ofc., Supp., (1938) 1 - 6

39. GRISHINA,T.I., ALEKSEEVA,O.G.: Mitogen stimulation during rosette formation: A test of measure numbers and function of T-,B-, "D-" and "Null"-lymphocytes in man. J.Immunol.Methods 38 (1980) 309-313

40. GROPP,A., FISCHER,R.: Ergebnisse der Züchtung von Lymphocyten in vitro. Klin.Wschr. 44 (1966) 666-669

41. GROTH,D.H.: Carcinogenicity of beryllium: Review of the literature. Environ.Res. 21 (1980) 56-62

42. HALL,T.C., WOOD, C.H., STOECKLE,J.D., TEPPER,L.B.: Case data from the beryllium registry. Arch.Ind.Hlth. 19 (1959) 100-103

43. HANIFIN,J.H., EPSTEIN, W.L., CLINE,M.J.: In vitro studies of granulomatous hyper sensitivity to beryllium. J.Invest.Dermatol. 55 (1970) 284-288

44. HARDY,H.L., RABE,E.W., LORCH,S.: United States Beryllium Case Registry (1952-1966). Review of its methods and utility. J.Occup.Med. 9 (1967) 271-276

45. HARDY,H.L., BARTTER, F.C., JAFFIN,A.E: Metabolic study of a case of chronic beryllium poisoning treated with ACTH. Arch.Ind.Hyg.Occup.Med. 3 (1951) 579-582

46. HARDY,H.L., TABERSHAW, I.R.: Delayed chemical pneumonitis occuring in workers exposed to beryllium compounds. J.Indust.Hyg. 28 (1946) 197-211

47. HASAN,F.M., KAZEMI,H.: Chronic beryllium disease: a continuing epidemiological hazard. CHEST 65 (1974) 289-293

48. HASAN,F.M., KAZEMI,H.: Progress report. U.S. Beryllium Case Registry, 1972 Am.Rev.Resp.Disease 108 (1973) 1252-1253

49. HEITMANN,H.J.: Vereinfachte Methodik der Lymphocytenkultur als Allergie-Test. Mikro-Vollblutmethode. Hautarzt 10 (1967) 459-461

50. HEITMANN,H.J.: Zur Methodik der Lymphocytenkultur als Allergietest. Hautarzt 14 (1967) 152-156

51. HOFMANN,U.,RÖDORFF,W.: Anorganische Chemie 20.Aufl. 1969. Vieweg-Verlag, Braunschweig

52. HUBER,H., HUBER,C.: Grundlagen der Lymphocytenkultur. Dtsch.Med.Wschr. 8 (1966) 360-363

53. HUNGERFORD,D.A., DONNELLY,A.J., NOWELL, P.C., BECK,S.: The chromosome constitution of a human phenotype intersex. Am.J.Hum.Genet. 11 (1959) 215-236

54. HYSLOP,F., PALMES,E.D., ALFORD,W.C., MONACO, A.R., FAIRHALL,L.T.: The toxicology of beryllium. Nat.Insts.Health Bull. No. 181 U.S.P.H.S. 1943

55. INFANTE,P.F., WAGONER,J.K., SPRINCE, N.L.: Mortality patterns from lung cancer and non-neoplastic respiratory disease among white males in the beryllium case registry. Environ.Res. 21 (1980) 35-43

56. IZUMI,T., KOBARA,Y., INUI,S.: The first seven cases of chronic beryllium disease in ceramic factory workers in Japan. Ann.of the N.Y. Academy of Sciences 278 (1967) 636-653

57. JONES,J.M., AMOS,H.E.: Contact sensitivity in vitro: Activation of actively allergized lymphocytes by a beryllium complex. Int.Arch.Allergy 46 (1974) 161-171

58. JONES WILLIAMS,W.: Beryllium disease - Pathology and Diagnosis
J.Soc.Occup.Med. 27 (1977) 93-96

59. JONES WILLIAMS,W.: Cutaneous and pulmonary manifestations of chronic beryllium disease.
Proceedings of the VI.International Conference in Sarcoidosis, Tokyo 1972
p. 141

60. KELLER,R.: Immunologie und Immunpathologie
1.Auflage 1977, Thieme Verlag,Stuttgart

61. KIMMERLE,G.: Beryllium
Handbuch der exp. Pharmakologie
Band 21, Springer-Verlag, Berlin 1966

62. KING,M., SHEFNER,A.M., EHRLICH,R.: Ind.Med.Surg. 33 (1964) 566

63. KÜHN,H.A., LASCH,H.G.: Untersuchungsmethoden der Inneren Medizin.
Band I, Thieme-Verlag Stuttgart,1975

64. LANGEHEINER,R.: Log-lineare Modelle zur multivariaten Analyse qualitativer Daten. Eine Einführung.
R.Oldenbourg Verlag München-Wien, 1980

65. LINDENBAUM,A., WHITE, M.R., SCHUBERT,J.: Studies on the mechanisme of protection by aurintricarboxylic acid in beryllium poisoning.
Correlation of molecular structure with reversal of biologic effects of beryllium.
Arch.Biochem.Biophys. 52 (1954) 110-147

66. LING,N.R.: Lymphocyte stimulation.
North Holland Publishing Company, Amsterdam 1968

67. MANCUSO,T.F.: Mortality study of beryllium industrie workers occupational lung cancer.
Environ.Res. 21 (1980) 48-55

68. MANCUSO,T.F.: Occupational lung cancer among beryllium workers.
In : "Conference on occupational Exposure to Fibrous and Particle Dust and their Extension into the Environment". Society for Occupational and Environmental Health, Washington D.C., 1979.

69. MANCUSO,T.F.: Relation of duration of employment and prior respiratory illness to respiratory cancer among beryllium workers.
Environ.Res. 3 (1970) 251-275

70. MANCUSO,T.F.: Epidemiologic study of the beryllium industrie: Cohort methodology and mortality studies.
J.Occup.Med. 11 (1969) 422-434

71. MARRADI-FABRONI,S.M.: Pulmonary pathologie of beryllium powders.
Med.Lavoro 26 (1935) 277-303

72. MARX,J.J., BURREL,R.: Delayed hypersensitivity to beryllium compounds.
J.Immunol. 111 (1973) 590-598

73. NOWELL,P.C.: Phytohämagglutinin: An initiator of mitosis in cultures of normal human leucocytes
Cancer Res. 20 (1960) 462-466

74. ORLOVA,A.A., OZEROVA,V.: Functional state of the adrenal cortex in patients with chronic berylliosis treated with glucocorticoid preparation.
Gig Tr Prof Zabol 10 (1966) 17-21

75. PARKER,V.H., STEVENS,C.: Binding of beryllium to nuclear acidic proteins.
Chem.-Biol. Interactions 26 (1979) 167-177

76. PATY,D.W., HUGHES,D.: Lymphocyte transformation using whole blood cultures: An analyses of responses.
J.Immunol.Methods 2 (1972) 99-114

77. PEYTON,P.F., WORCESTER,J.: Exposure data and epidemiology of the beryllium case registry.
Arch.Indust.Hlth. 19 (1959) 94-99

78. PRICE,C.D., PUGH,A., PIOLI,E.M., WILLIAMS,W.J.: Beryllium macrophage migration inhibition test.
Ann.N.Y.Acad.of Science 278 (1976) 204-211

79. PSCHYREMBEL,W.: Klinisches Wörterbuch.
251.Auflage, W. d. Gruyter-Verlag, Berlin, 1972

80. REEVES,A.L.: Umweltgefährdung durch Beryllium.
Zbl.Arbeitsmed. 2 (1974) 46-56

81. REEVES,A.L., KRIVANEK,N.D.,BUSBY,E.K., SWANBORG,R.H.: Immunity to pulmonary berylliosis in guinea pigs. Int.Arch.Occup.Hlth. 29 (1972) 209

82. REEVES,A.L., SWANBORG,R.H., BUSBY,E.K., KRIVANEK,N.D.: The role of immunologic reactions in pulmonary berylliosis. "Inhaled Particles III" (W.H. Walton,Ed.) 599 (1971)

83. REEVES,A.L.: Über die Retention von eingeatmetem Berylliumsulfat-Aerosol in Rattenlungen Int.Arch.Gewerbepath-Gewerbehyg. 24 (1968) 226

84. REEVES,A.L., DEITCH,D., VORWALD,A.J.: Beryllium carcinogenesis. Inhalation exposure of rats to beryllium sulfate aerosol. Cancer Res. 27 (1967) 439-445

85. REMOLD,H.G., KATZ,A.B., HABER,E.,DAVID,J.R.: Studies on migration inhibitory factor (MIF). Recover of MIF-activity after purification by gel filtration and disc electrophoresis. Cell.Immunol. 1 (1970) 133-145

86. RICK,W.: Klinische Chemie und Mikroskopie. 3.Aufl., Springer-Verlag,Berlin, 1974

87. ROBINSON,F.R., SCHAFFNER,F., TRACHTENBERG,E.: Ultrastructure of the lung of dogs exposed to beryllium-containing dusts. Arch.Environ.Hlth. 17 (1968) 193-203

88. SCHEPERS,G.W.H.: Biological action of beryllium and reaction of rats and monkeys. J.Indust.Med.Surg. 33 (1964) 1-16

89. SCHEPERS,G.W.H.: Neoplasia experimentally induced by beryllium compounds. Progr.Exptl.Tumor Res. 2 (1961) 203-244

90. SCHEPERS,G.W.H., DURKANT,T.M., DELAHANT,A.B., CREEDON,F.T.: The biological action of inhaled beryllium sulfate. A preliminary chronic toxicity study of rats. Arch.Indust.Hlth. 15 (1957) 32-58

91. SCHEPERS,G.W.H.: Recent observations on chronic pulmonary beryllium disease. In: "Transactions of the 20th Annual Meeting of Industrial Hygiene Foundation" (1955), 139-156

92. SCHUBERT,J., LINDENBAUM,A.: Studies on the mechanisme of protection by aurintricarboxylic acid in beryllium poisoning. J.Biol.Chem. 208 (1954) 359

93. SCHWARZACHER,H.G., WOLF,U.: Methoden in der medizinischen Cytogenetik. 2.Auflage 1970, Springer-Verlag,Berlin

94. SCOTT,J.K., NEUMANN,W.F.: Measurements of beryllium in animals with the isotop ^{7}Be. J.Biol.Chem. 182 (1949) 291

95. SHAKOVA,A.P., SOKOLOV,V.: Normal blood lymphocyte blast transformation in berylliosis and silicosis patients. Gig Tr Prof Zabol 8 (1976) 19-22

96. SIEGENTHALER,W.: Klinische Pathophysiologie
2.Auflage 1973, Thieme-Verlag,
Stuttgart

97. SIMON,N., DOBOZY,A., HUNYADI,J.: Die Bedeutung des Lymphocytentransformationstests in der Dermatologie.
Berufsdermatosen 18 (1970) 189-219

98. SPENCER,H.C.: Toxicological studies on beryllium oxides and beryllium containing exhaust products.
The Dow Chemical Company, 1968

99. SPENCER,H.C., JONES,J.C., SADEK,S.E.: Toxicol.Appl.Pharmacol. 7 (1965) 498

100. SPRINCE,N.L., KAZEMI,H.: U.S.Beryllium case registry through 1977
Environ.Res. 21 (1980) 44-47

101. SPRINCE,N.L., KAZEMI,H., HARDY,H.L.: Current (1975) problem of differentiating between beryllium disease and sarcoidosis.
Ann.N.Y.Acad. of Science 278 (1976) 654-664

102. STERNER,J.H., EISENBUD,M.: Epidemiology of beryllium intoxication.
Arch.Ind.Hyg.Occ.Med. 4 (1953) 123-151

103. STIEFEL,T.: Spurenanalytische Untersuchungen zur Verteilung von inkorporiertem Beryllium in Vollblut und Serumproteinen.
Inaugural-Dissertation 1978, Stuttgart

104. STOECKLE,J.D., HARRIET,L., HARDY,M.D., WEBER,A.L.: Chronic beryllium disease. Am.J.Med. 46 (1969) 545-561

105. SUSSMAN,V.H., LIEBEN,J., CLELAND,J.G.: An air pollution studie of a community surrounding a beryllium plant. Am.Ind.Hyg.Ass.J. 20 (1959) 504

106. TAPP,E.: Beryllium induced sarcomas of the rabbit tibia. Brit.J.Cancer 20 (1969) 778-783

107. TEPPER,L.B.,HARDY,H.L., CHAMBERLIN,R.: Toxicity of beryllium compounds 1.Auflage 1961. Elsevier Publishing Company, New York

108. VALENTIN,H., LEHNERT,G., PETRY,H.,WEBER,G., WITTGENS,H., WOITOWITZ,H.J.: Berufskrankheiten Arbeitsmedizin Band 2, 1979 Thieme-Verlag, Stuttgart

109. VAN ORDSTRAND,H.S., HUGHES,R., DE NARDI,J.M., CARMODY,M.G.: Beryllium poisoning J.Am.Med.Assoc. 129 (1945) 1084-1090

110. VAN ORDSTRAND,H.S., HUGHES,R., CARMODY,M.G.: Chemical pneumonia in workers extracting beryllium oxide. Cleveland Clin.Quart. 10 (1943) 10-18

111. VASILEVA,E.V., KHARLAMOVA,S.F.: Antinuclear and antimitochondrial antibodies in persons exposed to beryllium. Gig Tr Prof Zabol 11 (1976) 20-23

112. VAUQUELIN,L.N.: Ann.Chim. 26 (1798) 115

113. VORWALD,A.J.: Biologic manifestations of toxic inhalants in monkeys. Univ.Tex.Press, Austin 1968 222-228 (Ed. H. Vagtborg)

114. VORWALD,A.J., REEVES,A.L.: Pathologic changes induced by beryllium compounds Arch.Ind.Hlth. 19 (1959) 190-198

115. VORWALD,A.J., REEVES,A.L.: Inhaled atmospheric pollutants in the genesis of lung cancer; an experimental study of biochemical changes induced by beryllium. Acta Un.Int.Cancr. 15 (1959) 715-722

116. VORWALD,A.J.: Cancer of the lung. An evaluation of the problem. Proc.Sci.Session.Am.Canc.Soc.Ann.Meet. pp 103-109 Am.Canc.Soc. New York, 1953

117. VORWALD,A.J., PRATT,P.C., URBAN,E.J.: Acta Unio International contra Cancrum 11 (1955) 735

118. VORWALD,A.J.: Pneumoconiosis: Beryllium and Bauxite Fumes. Leroy U. Gardner Memorial Volume, p. 391. Paul B.Hoeker,New York 1950

119. VORWALD,A.J.: Beryllium granulomatosis in workers. J.Occup.Med. 5 (1948) 684-689

120. WAGNER,W.D.,GROTH,D.H., HOLTZ,J.L.,MADDEN,G.E., STOCKINGER,H.E.: Comparative chronic inhalation toxicity of beryllium ores, betrandite and beryl with Production of pulmonary tumors by beryl. Toxicol.Appl.Pharmacol. 15 (1969) 10-29

121. WAGNER,R., ZERLETT,G.: Die Berufskrankheiten nach der 6.BKVO. Kohlhammer Verlag Stuttgart, 1964

122. WEBER,H.H., ENGELHARDT,W.: Untersuchung von Stäuben aus der Berylliumgewinnung. Zbl.Gewerbehyg. 10 (1933) 41-47

123. WHITE,M.R.,FINKEL,A.J., SCHUBERT,J.: Protection against experimental beryllium poisoning by aurintricarboxylic acid. J.Pharmacol.Exp.Therap. 102 (1951) 88

124. WITSCHI,H.P., ALDRIGE,W.N.: Uptake, distribution and binding of beryllium to organelles of the rat liver cell. Biochem.J. 106 (1968) 811-820

125. WITSCHI,H.P.: Inhibition of desoxyribonucleic acid synthesis in regenerating rat liver by beryllium. Lab.Invest. 19 (1968) 67-71

126. WÖHLER,F.: Ann.Phys. 13 (1828) 577

127. ZELLER,J.: Der Lymphocyten-Transformationstest als "screening"-Untersuchung zur Feststellung einer spezifischen Sensibilisierung durch Berylliumsulfat. Inaugural-Dissertation 1976, Tübingen

128. ZORN,H., DIEM,H.: Die Bedeutung des Berylliums und seiner Verbindungen für den Arbeitsmediziner. Zbl.Arbeitsmed. 24/1 (1974) 3-8

129. ZORN,H., STIEFEL,T., DIEM,H.: Die Bedeutung der Berylliums und seiner Verbindungen für den Arbeitsmediziner 2.Mitteilung, Zbl.Arbeitsmed. 4 (1977) 83-88

130. ZORN,H., LÜBBERT,C.: Ausscheidung und Organverteilung des ß-Naphthylamin. Zbl.Arbeitsmed. 21 (1971) 56 und 184

131. ZSCHUNKE,E., FOLESKY,H.: Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Sensibilisierung gegen Beryllium. Hautarzt 20 (1969) 403-404

Lebenslauf

Am 23. März 1952 wurde ich, Bernd Adolf Bauer, als Sohn des Adolf Bauer und der Herta Bauer in Pliezhausen geboren.

1959 - 1963	Besuch der Grundschule in Pliezhausen
1963 - 1971	Besuch des mathematisch-naturwissenschaftlichen Johannes-Kepler-Gymnasiums in Reutlingen
19. Juni 1971	Reifezeugnis
WS 71 - SS 72	Studium der Biologie an der Universität Tübingen
WS 72 - WS 75	Studium der Vorklinischen Medizin an der Universität Ulm
21. März 1975	Ärztliche Vorprüfung in Ulm
SS 75 - SS 79	Studium der Klinischen Medizin an der Universität Tübingen
29. 10. 1979	Ärztliche Prüfung in Böblingen
28. 11. 1979	Erteilung der Approbation als Arzt
1. 1. 1980 - 31.3.1981	Grundwehrdienst bei der Bundeswehr als Truppenarzt

Zum 15. September 1981 Beginn der Weiterbildung mit einer wissenschaftlichen Assistentenstelle im Institut für Arbeits- und Sozialmedizin der Universität Tübingen

Druck und Verarbeitung: copy shop, darmstadt, tel. 21353